

DER EINFLUSS VON CALCIUM-ENTZUG UND METHACHOLIN
AUF DIE FREISETZUNG DES
FALSCHEN ÜBERTRÄGERSTOFFES α -METHYLADRENALIN
AUS DEM ISOLIERTEN KANINCHENHERZEN
DURCH SYMPATHISCHE NERVENREIZUNG UND EINE
NICOTINARTIGE SUBSTANZ

HERMANN FUDER

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554401_0052

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Johannes Gutenberg - Universität

DER EINFLUSS VON CALCIUM-ENTZUG UND METHACHOLIN AUF DIE FREI-
SETZUNG DES FALSCHEN ÜBERTRÄGERSTOFFES α -METHYLADRENALIN AUS
DEM ISOLIERTEN KANINCHENHERZEN DURCH SYMPATHISCHE NERVEN-
REIZUNG UND EINE NICOTINARTIGE SUBSTANZ

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt

von

HERMANN FUDER

aus Ludwigshafen/Rhein

Mainz 1975

Fachbereichsdekan: Professor Dr. P. Klein
Referent: Professor Dr. E. Muscholl
Korreferent: Professor Dr. K. Löffelholz

Tag der mündlichen
Prüfung: 25. Februar 1976

Gesamtherstellung



DITTERS BÜRODIENST

6501 HEIDESHEIM/RHEIN

AM KAPELLCHEN I · RUF 06132/5711



I. EINLEITUNG

1

II. METHODEN

2

1. Methoden und Vorgehensweise der Untersuchung
 1.1. Auswahl der Stichprobe und Erhebungsmethode 3

2. Beschreibung der Stichprobe und der Erhebungsmethode
 2.1. Beschreibung der Stichprobe 4

3. Beschreibung der Erhebungsmethode
 3.1. Beschreibung der Erhebungsmethode 5
 Meinen Eltern

4. Beschreibung der Erhebungsmethode 6

5. Beschreibung der Erhebungsmethode 7

III. ERGEBNISSE

8

1. Ergebnisse der Untersuchung
 1.1. Ergebnisse der Untersuchung 9

2. Ergebnisse der Untersuchung
 2.1. Ergebnisse der Untersuchung 10

3. Ergebnisse der Untersuchung
 3.1. Ergebnisse der Untersuchung 11

4. Ergebnisse der Untersuchung
 4.1. Ergebnisse der Untersuchung 12

5. Ergebnisse der Untersuchung
 5.1. Ergebnisse der Untersuchung 13

6. Ergebnisse der Untersuchung
 6.1. Ergebnisse der Untersuchung 14

7. Ergebnisse der Untersuchung
 7.1. Ergebnisse der Untersuchung 15

8. Ergebnisse der Untersuchung
 8.1. Ergebnisse der Untersuchung 16

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. METHODEN	4
1. Narkose und Präparation der Versuchstiere; intravenöse Infusion von α -Methyladrenalin	4
2. Perfusion der mit α -Methyladrenalin vorbe- handelten isolierten Kaninchenherzen	5
3. Bestimmung von Katecholaminen in Plasma, Herz und Perfusaten	8
4. Statistische Methoden	10
5. Verwendete Substanzen	11
C. VERSUCHSERGEBNISSE	12
1. Wirkung der Infusion von α -Methyladrenalin auf Blutdruck und Herzfrequenz der Kaninchen	12
2. Spontanfreisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin	13
3. Elektrische Stimulation sympathischer Nerven	13
a) Versuche bei Perfusion mit Tyrodelösung	13
b) Versuche bei Perfusion mit einer Lösung erniedrigten Calciumgehaltes	14
c) Versuche mit Methacholin	16
4. Chemische Nervenreizung mit der nicotin- artigen Substanz PAPETA	17
a) Infusion von PAPETA bei Perfusion mit Tyrodelösung	18
b) Infusion von PAPETA bei Perfusion mit einer Lösung erniedrigten Calciumgehaltes	19
c) Infusion von PAPETA in Anwesenheit von Methacholin	20

d) Infusion von PAPETA bei Perfusion mit Atropin-haltiger Tyrodelösung und Einfluß von Methacholin	24
5. Gehalt der Herzen an Katecholaminen	26
D. DISKUSSION	27
E. ZUSAMMENFASSUNG	32
F. LITERATUR	

Lebenslauf

A. EINLEITUNG

Seit langem kennt man die Bedeutung des extrazellulären Calciums bei der Freisetzung von adrenergen Überträgersubstanzen aus den terminalen sympathischen Nervenfasern. HUKOVIC und MUSCHOLL (1962) wiesen die Abhängigkeit der Freisetzung von Noradrenalin durch sympathische Nervenstimulation vom Calciumgehalt der Perfusionslösung am isolierten Kaninchenherzen nach. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten KIRPEKAR und MISU (1967) bei Versuchen mit sympathischer Nervenstimulation an der Katzenmilz. Nicotinartige Substanzen setzen in Anwesenheit von extrazellulärem Calcium Noradrenalin frei (LINDMAR, LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL, 1967). Ebenso ist die Freisetzung von Noradrenalin durch hohe Kaliumkonzentrationen an die Anwesenheit von Calcium gebunden (KIRPEKAR und WAKADE, 1968). Andererseits setzt Tyramin als indirektes Sympathomimeticum auch in Abwesenheit von Calcium Noradrenalin frei (LINDMAR, LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL, 1967; THOENEN, HUERLIMANN und HAEFELY, 1969).

Verschiedene neuere Arbeiten beschreiben die Anwesenheit von Muskarinrezeptoren an der terminalen sympathischen Nervenfasern. Die durch Infusion von Acetylcholin am Meerschweinchenherzen ausgelöste Noradrenalinausschüttung (LINDMAR, LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL, 1968) wurde in Anwesenheit von Atropin auf das Zehnfache erhöht. Muskarinisch wirksame Substanzen vermindern die Freisetzung von Noradrenalin durch elektrische Stimulation postganglionärer sympathischer Nervenfasern (LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL, 1969). Ebenso wird die Freisetzung von Noradrenalin durch Infusion nicotinartiger Substanzen in Anwesenheit von muskarinisch wirksamen Verbindungen vermindert (FOZARD und MUSCHOLL, 1972). Die durch Tyramin hervorgerufene Noradrenalinfreisetzung, die Calcium - unabhängig ist, wird durch Methacholin nicht beeinflußt (LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL, 1969). Daß die muskarinische Hemmung nur bei

Calcium - abhängigen Freisetzungen nachzuweisen ist, läßt darauf schließen, daß ausschließlich Freisetzungsmechanismen, die vom Eintritt von Calciumionen in die terminalen Nervenfasern abhängig sind, der muskarinischen Hemmung unterliegen. Für "falsche" Überträgersubstanzen ist diese Relation bisher noch nicht nachgewiesen worden.

In früheren Arbeiten wurde häufig über das den physiologischen Neurotransmittersubstanzen ähnliche Verhalten der "falschen" Überträgersubstanzen berichtet. KOPIN (1968) stellte Kriterien auf, die Pharmaka aus der Gruppe der "falschen" Überträgerstoffe erfüllen: ihre Aufnahme in die Nerven und in die intraaxonalen Vesikel, ihre Speicherung darin und ihre Freisetzung durch sympathische Nervenstimulation und durch Pharmaka, die Noradrenalin freisetzen. Dagegen ist ihre Wirkung auf die Funktion verschiedener Organe meist verschieden von der des Noradrenalin (Literaturübersicht siehe MUSCHOLL, 1972). Ein gut charakterisiertes Beispiel für eine "falsche" Überträgersubstanz stellt das α -Methyladrenalin (= Dihydroxyephedrin) dar. Wenn es durch intravenöse Infusion in die neuronalen Aminspeicher inkorporiert worden ist, wird es durch sympathische Nervenreizung und durch Substanzen, die die physiologischen Transmittersubstanzen freisetzen, aus den Speichern entleert (MUSCHOLL, 1966; MUSCHOLL und SPRENGER, 1966; LINDMAR, MUSCHOLL und SPRENGER, 1967).

α -Methyladrenalin läßt sich leicht in die Katecholaminspeicher inkorporieren, wird genügend lange darin gespeichert und bei elektrischer Reizung sympathischer Nerven am isolierten Kaninchenherzen in die Perfusionsflüssigkeit abgegeben. Zudem läßt es sich zusammen mit Noradrenalin in einem Arbeitsgang leicht nachweisen.

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, am isolierten Kaninchenherzen den Einfluß von Calciumentzug und einer muskarinartigen Substanz auf die Freisetzung von Noradrenalin

und α -Methyladrenalin aus den terminalen adrenergen Nervenfasern durch sympathische Nervenstimulation und Infusion einer nicotinartigen Substanz zu prüfen. Hierfür wurde p-Aminophenyläthyltrimethylammonium (PAPETA) benutzt, eine spezifisch nicotinartig wirksame Substanz, die keine nachweisbare atropinartige Wirkung besitzt (BARLOW und FRANKS, 1971). Am isolierten Kaninchenherzen wird die Noradrenalinfreisetzung durch Infusion von PAPETA dosisabhängig durch die muskarinisch wirksame Substanz Methacholin vermindert und dieser Effekt durch Atropinsulfat antagonisiert (MUSCHOLL, 1973). In der vorliegenden Arbeit wird als muskarinische Substanz Methacholin verwendet, weil es sich in Untersuchungen von FOZARD und MUSCHOLL (1972) als besonders stark und spezifisch wirksam erwies.

B. METHODEN

1. Narkose und Präparation der Versuchstiere; intravenöse Infusion von α -Methyladrenalin

Männliche und weibliche Kaninchen von 1,6 - 2,2 kg Körpergewicht wurden durch Injektion von 30 mg Pentobarbital-Natrium / kg Körpergewicht in die marginale Ohrvene narkotisiert. Anschließend wurde mit Äther das Toleranzstadium herbeigeführt und für etwa zwei Stunden aufrechterhalten. Der Äther wurde so dosiert, daß der Kneifreflex gerade unterdrückt war und ein reflektorischer Atemstillstand oder starke Blutdruckschwankungen vermieden wurden. Die Körpertemperatur während der Narkose betrug 39 - 41° C.

Die Präparation begann mit der Freilegung der linken Arteria carotis. Das Gefäß wurde mit zwei Fadenschlingen gesichert. Danach wurde die linke Vena femoralis freigelegt und in sie eine Kanüle eingebunden. Um eine Thrombosierung der Kanülen zu verhindern und das spätere Entbluten zu erleichtern, wurden zunächst 5000 IE Heparin intravenös injiziert. Die Kaninchen erhielten für 20 Minuten eine Dauerinfusion von 85 μ g/kg und min α -Methyladrenalin entsprechend 100 μ g/kg und min α -Methyladrenalin-HCl, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, der 1 mg Ascorbinsäure zugefügt war. Die Konzentration der α -Methyladrenalinlösung war so gewählt, daß dem Tier pro min 1 ml Flüssigkeit infundiert werden konnte.

Vor dem Anlegen der Infusion wurde in die linke Arteria carotis eine mit physiologischer Kochsalzlösung luftblasenfrei gefüllte Kanüle eingebunden, um den Blutdruckverlauf und die Herzfrequenz der Tiere während der Infusion zu messen. Der Blutdruck wurde über die Kanüle auf einen Druckaufnehmer (Statham) übertragen, dessen Impulse von einem Hellig-Direktschreiber HE 19 aufgenommen und kontinuierlich

aufgezeichnet wurden. Die Schreibausschläge wurden vor der Registrierung mit einem Quecksilbermanometer geeicht. Der systolische Blutdruckanstieg diente als Eingangssignal für einen Pulsfrequenzschreiber, dessen Aufzeichnungen wegen der geringen Empfindlichkeit des Gerätes nur bei genügend hoher Amplitude dem wahren Frequenzverlauf entsprachen. Dieser Mangel wurde nicht beseitigt, da diesem Meßwert in der vorliegenden Fragestellung keine Bedeutung zukam.

2. Perfusion der mit α -Methyladrenalin vorbehandelten isolierten Kaninchenherzen

15 Minuten nach Beendigung der Infusion wurden die Versuchstiere durch Öffnen der Carotiden entblutet. Weiterhin wurde eine Präparation des sympathisch innervierten Herzens durchgeführt (HUKOVIC und MUSCHOLL, 1962). Dabei wurde der Thorax beiderseits des Sternums geöffnet, eine Aortenkanüle eingebunden und das Herz mit niedrigem Druck perfundiert. Die Lungen wurden herausgeschnitten und der Thymus stumpf entfernt. Der rechte Nervus sympathicus wurde dann von cranial her bis an das Ganglion stellatum heran präpariert, ohne die das Ganglion verlassenden Fasern zu verletzen, und ein Faden angeschlungen. Nach Entfernung von Ösophagus, A. carotis und Nervus vagus wurde das Herz vorsichtig herausgeschnitten.

Das Herz wurde an eine LANGENDOFFF-Apparatur angeschlossen und mit einem Perfusionsdruck von 60 cm H₂O durchströmt. Der N. sympathicus wurde so weit durch eine ringförmige bipolare Reizelektrode gezogen, daß das Ganglion stellatum mit den zugehörigen postsynaptischen Fasern an die Platinelektrode zu liegen kam, wobei es dauernd mit Tyrodelösung befeuchtet wurde. Zur Perfusion der Herzen wurde Tyrodelösung folgender Zusammensetzung benutzt (Angaben in g): NaCl 8,0; KCl 0,2; CaCl₂ 0,2; MgCl₂ 0,1; NaHCO₃ 1,0; NaH₂PO₄ 0,05; Glucose 1,0; Ascorbinsäure 0,01; demineralisiertes Wasser ad 1000 ml. Die Nährlösung wurde mit einem Gemisch

aus 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid begast. Ein Thermostat hielt ihre Temperatur auf $34,5 - 36^{\circ} \text{C}$.

Danach wurde das Herz nach einer Modifikation der Transversalmethode fixiert (FOZARD und MUSCHOLL, 1971). Diese gestattet eine getrennte Registrierung der systolischen Spannungsentwicklung von Vorhof und Herzkammer. Dabei wurde das Septum mit zwei Fäden fixiert. Der rechte Ventrikel wurde durch einen dritten Faden, der mit den beiden Haltefäden je einen Winkel von 120° bildete, mit einem mechanoelektrischen Wandler (Grass, FT.03) verbunden, der die isometrische Spannungsentwicklung der Kammer aufnahm. Die vorgegebene diastolische Vorspannung betrug 5 - 10 g. Ein weiterer Faden wurde am rechten Herzohr befestigt und bei einer diastolischen Vorspannung von 0,5 - 1,0 g mit einem weiteren elektromechanischen Wandler des gleichen Typs in Verbindung gebracht. Die Impulse der Wandler wurden einem Hellige - Direktschreiber HE 19 zugeleitet, und die Spannungsentwicklung kontinuierlich registriert. Ein Pulsfrequenzschreiber wurde über die Schwankungen der Kammer-spannung getriggert.

Die erste sympathische Probereizung (Impulse von 10 Hz, 1 msc, 5 sec lang) zur Prüfung, ob die Präparation gelungen war, erfolgte 25 - 35 min nach dem Entbluten. Danach wurden 140 ml Perfusionsflüssigkeit aufgefangen, um die Spontanfreisetzung von Katecholaminen zu bestimmen.

Der weitere Versuchsablauf gliederte sich in zwei zeitlich nacheinander geordnete Gruppen: 1) im Abstand von je 10 min drei Perioden mit elektrischer Reizung der sympathischen Nerven und 2) 15 min nach Beginn des dritten Reizeffektes im Abstand von 15 min drei chemische Nervenreizungen mit PAPETA.

Zunächst wurden im Abstand von 10 min während je einer Minute das Ganglion stellatum mit Rechteckimpulsen supra-maximaler Reizstärke, von 1 msec Dauer und einer Frequenz

von 10 Hz stimuliert. Der Stromfluß betrug 10 mA. Das Perfusat wurde beginnend bei Reizanfang aufgefangen und während drei Minuten gesammelt. Aus dem Volumen wurde der Koronardurchfluß/min bestimmt. Die erste sympathische Nervenstimulation (SNS1) wurde immer bei Perfusion mit Tyrodelösung durchgeführt, und die dabei freigesetzte Katecholaminmenge diente am einzelnen Herzen als Bezugswert für die bei der zweiten und dritten Stimulation in das Perfusat abgegebenen Überträgersubstanzen. Die zweite elektrische Stimulation (SNS2) wurde durchgeführt, um die Auswirkung der veränderten Zusammensetzung der Perfusionsflüssigkeit auf die Abgabe von Katecholaminen zu prüfen:

a. Stimulation bei Perfusion mit Tyrodelösung, b. Perfusion mit einer Lösung niedrigen Calciumgehaltes ($0,2 \text{ mÄq/l}$ gegenüber $3,6 \text{ mÄq/l}$ in Tyrodelösung), die 7 min vor SNS2 einsetzte, c. Perfusion mit Tyrodelösung, der Methacholin $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ zugesetzt war und die 3 min vor der Stimulation begann. Um einen methodischen Fehler auszuschalten, diente eine dritte sympathische Nervenreizung während der Perfusion mit Tyrodelösung zur Kontrolle, ob das Ansprechen des Präparates auf elektrische Stimulation noch gewährleistet war.

Die Katecholaminmengen, die durch die sympathischen Nervenstimulationen aus den Speichern freigesetzt werden, waren im Vergleich zu den durch PAPETA ausgeschütteten Mengen klein. So war es möglich, an eben demselben Herzen den zweiten Versuchsteil anzuschließen.

15 min nach Beginn der dritten elektrischen Stimulation wurden im Abstand von 15 min je 2 min lang eine Lösung, die PAPETA $3,16 \times 10^{-5} \text{ M}$ enthielt, durch das Herz perfundiert. Beginnend mit der PAPETA-Infusion wurde das Perfusat 3 min lang gesammelt und der Koronardurchfluß/min errechnet. Die erste chemische Nervenreizung mit PAPETA erfolgte bei Perfusion des Herzens mit Tyrodelösung.

Bei der zweiten Reizung mit PAPETA variierte die Zusammensetzung der Perfusionsflüssigkeit: 1) Perfusion mit Tyrodelösung, 2) Perfusion mit einer Lösung niedrigen Calciumgehaltes ($0,2 \text{ mÄq/l}$), mit der 10 min vor dem zweiten PAPETA-effekt begonnen wurde, 3) Perfusion mit Tyrodelösung wechselnden Methacholingehaltes ($2,5 \times 10^{-6} - 4 \times 10^{-5} \text{ M}$), die 3 min vor der Reizung einsetzte. Eine dritte chemische Nervenreizung mit PAPETA in Tyrodelösung sollte die Reversibilität der Veränderungen prüfen. Bei einer weiteren Versuchsanordnung wurde, 8 min vor dem ersten PAPETA-Effekt beginnend, Tyrodelösung mit Atropinsulfat $1,4 \times 10^{-6} \text{ M}$ infundiert. Dies war möglich, da Atropin die Ausschüttung von Überträgersubstanzen gegenüber den obengenannten Kontrollversuchen nicht veränderte. In dieser Versuchsreihe mit atropinhaltiger Perfusionslösung erfolgte der zweite PAPETA-Effekt in Anwesenheit von Methacholin $4 \times 10^{-5} \text{ M}$.

Unmittelbar vor den Reizeffekten wurden folgende Parameter gemessen und mit den Werten während der elektrischen und chemischen sympathischen Nervenreizungen verglichen: der Koronardurchfluß/min, die systolische Spannungsentwicklung von rechtem Vorhof und Ventrikel, die Kammerfrequenz. An einer Reihe von Kaninchenherzen, die für Versuche mit PAPETA benötigt wurden, wurde keine elektrische sympathische Nervenstimulation durchgeführt. Stattdessen wurden die Herzen entsprechend lange Zeit nur mit Tyrodelösung perfundiert. Die Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin durch PAPETA an Präparaten mit vorheriger Nervenstimulation unterschied sich nicht von derjenigen an nicht elektrisch gereizten Präparaten.

3. Bestimmung von Katecholaminen in Plasma, Herz und Perfusaten.
Beim Entbluten der Kaninchen wurde das Blut in einem eiskühlten Gefäß nach Heparinvorlage gesammelt und bei 0°C zentrifugiert. Der Plasmaüberstand wurde mit 10 % Trichlor-

essigsäure versetzt und die Amine im Kühlschrank 20 min lang extrahiert.

Sofort nach Beendigung der Perfusion wurde das Herzgewicht bestimmt und das Herz mit Hilfe eines "Ultraturrax"-Homogenisators in zwei Portionen (zusammen 50 ml) eiskalter 5 % Trichloressigsäure homogenisiert. Nach dem Zentrifugieren wurden die Überstände vereinigt und als Herzextrakt verwendet.

In den Auffanggefäßen für die Perfusate wurde 1,8 ml 1 n H_2SO_4 vorgelegt, um die Stabilität der Katecholamine zu gewährleisten.

Die in Plasma- und Herzextrakt und in den Perfusaten enthaltenen Katecholamine wurden nach früher beschriebenen Methoden (EULER und ORWEN, 1955; LINDMAR und MUSCHOLL, 1964) bei pH 8,8 an Aluminiumoxyd adsorbiert und mit 0,5 n H_2SO_4 eluiert.

Die anschließende differentialfluorometrische Bestimmung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin erfolgte nach der von MUSCHOLL (1966) angegebenen Modifikation der Trihydroxyindolmethode. Die Messung erfolgte an einem ZEISS-Spektralfluorometer bei 520 nm durch Anregung bei 395 nm und 436 nm. Weitere Einzelheiten sind der angeführten Literatur zu entnehmen.

Zur Bestimmung der methodischen Meßausbeute wurden vier Versuche durchgeführt. Noradrenalin (100 - 250 ng) und α -Methyladrenalin (100 - 500 ng) wurden in 100 ml Tyrodelösung gelöst und ihre Mengen chemisch bestimmt. Der Mittelwert $\bar{x}$ der Ausbeute und der mittlere Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ betrugen für Noradrenalin $78 \pm 6,4$ % und für α -Methyladrenalin $51 \pm 5,9$ % der vorher eingesetzten Mengen. Die in Plasma, Herz und Perfusaten gefundenen Katecholaminmengen wurden nicht mit einem Ausbeutefaktor korrigiert.

Die Spontanfreisetzung von Aminen wurden gemessen in Abhängigkeit von der Zeit nach Perfusionsbeginn, dem Calcium-

und Methacholingehalt der Lösung, sowie vor und nach sympathischer Nervenstimulation und PAPETA-Effekten. Die Spontanfreisetzung wurde aus 140 ml Perfusat bzw., wenn die Zeit zum Sammeln von 140 ml nicht ausreichte, aus dem Perfusat von 3 min bestimmt. Von den bei elektrischer Nervenreizung ausgeschütteten Aminmengen wurden die Mengen abgezogen, die spontan freigesetzt wurden. Eine Korrektur der nach PAPETA abgegebenen Aminmengen erschien nicht sinnvoll, da die Spontanfreisetzung/3 min nur 1/50 der PAPETA bedingten Freisetzung betrugen. Die Mengen an Katecholaminen wurden stets auf die Basen bezogen.

4. Statistische Methoden

Die Anzahl der Versuche wurde als n angegeben. Sämtliche Ergebnisse stellen den Mittelwert ($\bar{x}$) $\pm$ einmal dem mittleren Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) dar. Mittelwertsvergleiche wurden mit Student's t-Test (SNEDECOR, 1950) durchgeführt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wird mit p angegeben. Statistische Signifikanz wird in der vorliegenden Arbeit bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,01$ angenommen. Bei der Angabe des Anteiles von α -Methyladrenalin an der Summe der freigesetzten Amine wird der Mittelwert der Einzelwerte und der niedrigste und höchste Einzelwert angegeben. Bei diesen Werten wurden, weil keine Normalverteilung vorlag, Stichprobenvergleiche mit dem U-Test von WILCOXON, MANN und WHITNEY (1947) angestellt (SACHS, 1971).

5. Verwendete Substanzen

α -Methyladrenalin (α MA); für die Infusionen und die Standardlösungen für die Fluorimetrie wurde (+)- 3,4-Dihydroxyephedrin-HCl (C.H. Boehringer-Sohn, Ingelheim) verwendet.

(-)-Noradrenalin-Base (NA) (Farbwerke Hoechst, Frankfurt/M.-Hoechst)

p-Aminophenyläthyltrimethylammoniumjodid (PAPETA)
von Dr. Barlow, Universität Edinburgh, freundlichst überlassen

Methacholinchlorid (MCH) (Schuchard, München)

Atropinsulfat (Atr.) (C.H. Boehringer-Sohn, Ingelheim)

Pentobarbital-Na (Nembutal^R) (Deutsche Abbot GmbH, München)

Narkoseäther (Farbwerke Hoechst, Frankfurt/M.-Hoechst)

Heparinsulfat (Vetren^R) (Promonta, Hamburg)

C. VERSUCHSERGEBNISSE

1. Wirkung der Infusion von α -Methyladrenalin auf Blutdruck und Herzfrequenz der Kaninchen

In Narkose erhielten die Kaninchen 20 min lang eine intravenöse Infusion von 85 μ g/kg u. min α -Methyladrenalin. Die Auswertung der Blutdruck- und Pulsregistrierungen von 42 Tieren zeigte einen typischen Verlauf, den ein Beispiel in Abbildung 1 illustriert. In Tabelle 1 ist der Mittelwert des Blutdruckes sowie die Veränderungen während und nach der Infusion dargestellt. Unmittelbar nach Beginn der Infusion fiel der Blutdruck der Tiere kurzfristig ab, um dann steil anzusteigen. Dieser Abfall des Blutdrucks wurde auch früher von MUSCHOLL und SPRENGER (1966) festgestellt und auf die in niedrigen Konzentrationen überwiegende Wirkung des α -Methyladrenalin auf vaskuläre β -Rezeptoren zurückgeführt. Mit zunehmender Infusionsdauer und der damit verbundenen Zunahme der Konzentration von α -Methyladrenalin im Blut stieg der Blutdruck an. Bei den 42 Kaninchen betrug der Blutdruck vor Infusionsbeginn 104 ± 2 mmHg. Der Wert erreichte mit einem Anstieg von $19,9 \pm 1,9$ mmHg nach 2 min sein Maximum. Nach 10 min lag der Mitteldruck noch um $11 \pm 1,7$, nach 20 min um $9 \pm 1,7$ mmHg über dem Ausgangswert. Der Blutdruck fiel nach Absetzen der Infusion ab und lag 1 min danach um $17,8 \pm 1,9$, nach 15 min um $15,3 \pm 1,4$ mmHg unter dem vor Infusionsbeginn gemessenen Wert.

Eine quantitative Auswertung der Registrierung der Herzfrequenz konnte nicht durchgeführt werden, weil die Aufzeichnungen des Pulsfrequenzschreibers aus den oben genannten Gründen nicht immer dem wahren Frequenzverlauf entsprachen.

An den störungsfrei aufgezeichneten Kurven ließ sich folgende Tendenz zeigen: Anstieg der Pulsfrequenz nach einsetzender Infusion, danach wieder leichter Abfall. Sodann stieg die Frequenz linear bis zum Ende der Infusion an. Nach Absetzen fiel der Puls auf Werte um das Ausgangsniveau schwankend zurück.

Tab. 1

Verlauf des mittleren Blutdrucks bei Infusion von α -Methyladrenalin.

min	Infusionsbeginn					Ende der Infusion			
	-2	0	1	2	10	15	20	1	15
	104	-9	+14	+19	+11	+9	+9	-18	-15
	± 2	$\pm 1,4$	$\pm 1,5$	$\pm 1,9$	$\pm 1,7$	$\pm 1,7$	$\pm 1,7$	$\pm 1,9$	$\pm 1,4$

Legende: Dargestellt sind die Mittelwerte $\bar{x}$ und ihre mittleren Fehler $s_{\bar{x}}$ des Verlaufes des Blutdrucks der linken A. carotis an narkotisierten Kaninchen (n = 42) vor, während und nach der Infusion mit α -Methyladrenalin (85 μ g/kg und min).

In Spalte 1 ist der mittlere Blutdruck der Kaninchen vor Infusionsbeginn in mmHg angegeben, in den folgenden der mittleren Abfall(-) bzw. Anstieg(+) vom Ausgangswert.

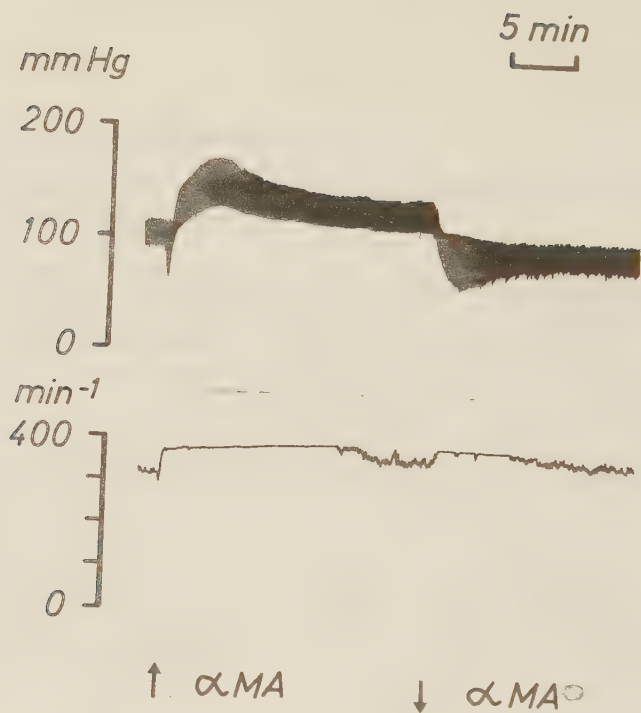


Abb. 1: Wirkung einer Infusion von 85 $\mu\text{g/kg}$ und min α -Methyladrenalin auf den Blutdruck und die Pulsfrequenz des Kaninchens während Pentobarbital- + Äthernarkose. Die Registrierung des Blutdrucks erfolgte blutig in der linken A. carotis. Die Höhe der systolischen Blutdrucksteigerung diente als Eingangssignal für einen Pulsfrequenzschreiber. Oberer seitlicher Maßstab: Blutdruck in mmHg , unterer seitlicher Maßstab: Pulsfrequenz in Schlägen/ min , horizontaler Maßstab: Zeitverlauf in min . Bei $\uparrow \alpha \text{MA}$: Beginn der Infusion, bei $\downarrow \alpha \text{MA}$: Ende der Infusion von α -Methyladrenalin.

2. Spontanfreisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin

Die Spontanfreisetzung der Katecholamine aus dem isolierten Herzen wurde etwa 40 min nach Entbluten der Tiere bestimmt. Sie betrug im Mittel pro min bei 24 Perfusaten $3,2 \pm 1,1$ ng Noradrenalin und $9,7 \pm 1,7$ ng α -Methyladrenalin. Weitere Freisetzen wurden bestimmt bei Perfusion mit einer Lösung niedrigen Calciumgehaltes, bei Perfusion mit Tyrodelösung, der Methacholin oder Atropin und Methacholin zugesetzt war, 30 min nach Sammeln des ersten Perfusates, nach sympathischer Nervenreizung und nach Infusion von PAPETA. Es ließen sich keinerlei signifikante Veränderungen der Spontanfreisetzung gegenüber dem Wert 40 min nach Entbluten nachweisen. So wurden die erhaltenen Werte zusammengefaßt und ihr Mittelwert ($n = 48$) für Noradrenalin: $3,2 \pm 0,8$ ng/min und für α -Methyladrenalin $7,3 \pm 1,1$ ng/min zur Korrektur der bei sympathischer Nervenreizung freigesetzten Aminmengen benutzt.

3. Elektrische Stimulation sympathischer Nerven

a) Versuche bei Perfusion mit Tyrodelösung

Die erste Versuchsreihe bestand aus drei im Abstand von 10 min aufeinanderfolgenden elektrischen Reizungen der sympathischen Nerven (10 Hz, 1 msec, 1 min Dauer). Es kamen nur Versuche zur Auswertung, bei denen der erste Effekt mehr als 10 ng Noradrenalin und 50 ng α -Methyladrenalin freisetzte, da bei einer geringeren Freisetzung die Präparation als technisch nicht gelungen betrachtet wurde. Die mittleren freigesetzten Aminmengen betrugen bei der ersten Reizung an sechs Herzen 40 ± 7 ng Noradrenalin und 155 ± 25 ng α -Methyladrenalin. Der Anteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Katecholamine betrug 78 (Extremwerte: 62 - 89) %. Bei jedem Herzen wurden die bei der zweiten und dritten Reizung freigesetzten Mengen, S2 und S3, in % von S1 angegeben.

Tab. 2: Der Einfluß einer elektrischen Stimulation sympathischer Nerven auf Koronardurchfluß und Mechanogramm des Kaninchenherzens

Versuchsreihen	<u>S 1</u>				<u>S 2</u>			
	D	Ka	Vo	Fr	D	Ka	Vo	Fr
1 (n=6)	98 $\pm$ 3,3 n=5	129 $\pm$ 3	354 $\pm$ 63	151 $\pm$ 8				
2 (n=6)	101 $\pm$ 3,1	135 $\pm$ 5	362 $\pm$ 49	150 $\pm$ 8				
3 (n=6)	95 $\pm$ 2,6	163 $\pm$ 24	472 $\pm$ 126	138 $\pm$ 7				
<u>Vorperfusion</u>								
1 Kontrolle (n=6)	-	-	-	-	98 $\pm$ 1,7	131 $\pm$ 4	296 $\pm$ 3,8	146 $\pm$ 5
2 Ca O,2 mÄq/l (n=6)	116 $\pm$ 20,4"	0	0	0	80 $\pm$ 5,2 ⁺	0	0	0
3 MCH 4 x 10 ⁻⁵ M	93 $\pm$ 14,2	19 $\pm$ 12,5	8 $\pm$ 8	10 $\pm$ 6,5	88 $\pm$ 7	47 $\pm$ 19,2	0	19 $\pm$ 7,7
"bezogen auf Durchfluß bei S1					+bezogen auf Vorlauf bei Perfusion mit Calcium-arter Lösung			
<u>S 3</u>								
	D	Ka	Vo	Fr				
1 (n=6)	101 $\pm$ 8 n=5	120 $\pm$ 3	291 $\pm$ 37	139 $\pm$ 4 n=5				
2 (n=6)	105 $\pm$ 3	118 $\pm$ 5	283 $\pm$ 35	136 $\pm$ 7				
3 (n=6)	96 $\pm$ 4,5 n=5	132 $\pm$ 9	490 $\pm$ 195	173 $\pm$ 28				

Legende zu Tab. 2: Dargestellt ist der Einfluß von drei elektrischen Stimulationen sympathischer Nerven während 1 min (10 Hz, 1 msec) im Abstand von 10 min (S1, S2, S3). Bei S1 und S3 Perfusion des isolierten Kaninchenherzens mit Tyrodelösung. Bei S2 Veränderung der Zusammensetzung der Perfusionsflüssigkeit in den drei Versuchsreihen:

1: Tyrodelösung (Kontrolle); 2: Perfusionslösung mit erniedrigtem Calciumgehalt ($\text{CaCl}_2 = 0,2 \text{ mÄq/l}$), Reizeffekt nach 6 min dauernder Vorperfusion; 3: Tyrodelösung mit Methacholin (MCH) $4 \times 10^{-5} \text{ M}$, Reizeffekt nach 3 min dauernder Vorperfusion:

D: Koronardurchfluß in % des Wertes vor dem Reizeffekt

Ka: maximale systolische Spannungsentwicklung der rechten Kammer während des Effektes in % des Ausgangswertes.

Vo: maximale systolische Spannungsentwicklung des rechten Vorhofes während des Effektes in % des Ausgangswertes.

Fr: Kammerfrequenz in % der Ruhefrequenz.

Bei der zweiten Reizung wurden im Mittel $58 \pm 6,0$ % Noradrenalin und $63 \pm 9,7$ % α -Methyladrenalin freigesetzt. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine betrug 80 (67 - 84). Die dritte elektrische sympathische Nervenreizung setzte noch weniger Amine frei: Es wurden im Perfusat $38 \pm 4,6$ % Noradrenalin und $33 \pm 8,9$ % α -Methyladrenalin der bei S1 abgegebenen Mengen nachgewiesen.

Abbildung 2 verdeutlicht die genannten Werte.

Die systolische Spannungsentwicklung der rechten Kammer betrug während der ersten Reizung 129 ± 3 % und die des Vorhofes 354 ± 63 % des Ausgangswertes. Die Frequenz wurde auf 151 ± 8 % des Wertes in Ruhe erhöht. Die während der zweiten und dritten Reizperiode gemessenen Werte (Tab. 2) unterschieden sich nicht auffällig von denen der ersten Reizung. Bei keiner Reizperiode wurde eine signifikante Änderung des Koronardurchflusses gegenüber dem Ruhezustand gemessen. Eine Zusammenstellung der Veränderungen der systolischen Spannungsentwicklung von Kammer und Vorhof, der Frequenz und des Koronardurchflusses ist in Tabelle 2 zu finden. Ein Beispiel für das Mechanogramm dreier elektrischer sympathischer Nervenreizungen ist in Abbildung 3 dargestellt.

b) Versuche bei Perfusion mit einer Lösung erniedrigten Calciumgehaltes

In dieser Versuchsreihe sollte der Einfluß des Calciumentzuges auf die Freisetzung von Überträgerstoffen durch elektrische Stimulation geprüft werden. Die erste sympathische Nervenreizung erfolgte bei Perfusion des Herzens mit Tyrodelösung. Die hierbei freigesetzten Mengen betrugen $82 \pm 45,7$ ng Noradrenalin und $179 \pm 69,1$ ng α -Methyladrenalin. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine betrug 73 (63 - 88). Die Anzahl der Herzen war $n = 6$.

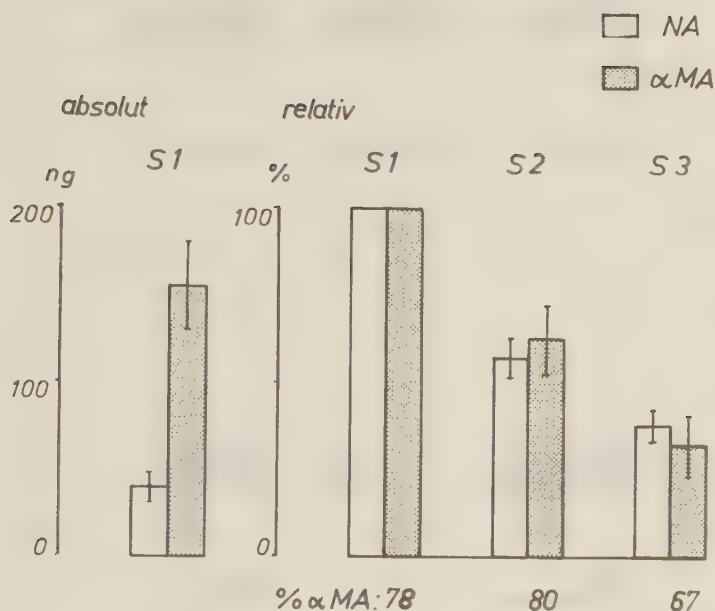


Abb. 2: Freisetzung von Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α -MA) aus dem isolierten Kaninchenherzen durch drei elektrische sympathische Nervenstimulationen im Abstand von 10 min (S1, S2, S3). Während 1 min Reizung mit Rechteckimpulsen (10 Hz, 1 ms) supramaximaler Reizstärke, Perfusion mit Tyrodelösung. Die Säulen geben die Mittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ der Aminfreisetzung in ng (absolut, linker Teil der Abb.) oder in % des bei S1 erhaltenen Wertes an (relativ, rechter Teil der Abb.). Helle Säulen: NA, dunkle Säulen: α MA. Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine: % α MA. Anzahl der Versuche n = 6.

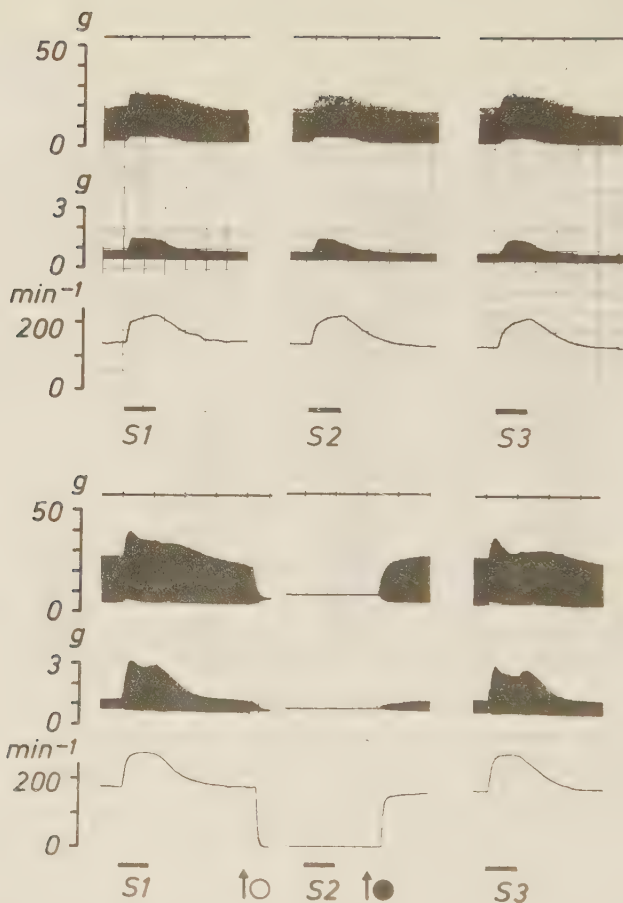


Abb. 3: Wirkung der elektrischen sympathischen Nervenreizung auf das Mechanogramm des isolierten Kaninchenherzens. Registrierungen von oben nach unten: Zeit (min), systolische Spannungsentwicklung der rechten Kammer (g), systolische Spannungsentwicklung des rechten Vorhofes (g) und Kammerfrequenz (min⁻¹). Oberer Teil bei Perfusion des Herzens mit Tyrodelösung. Unterer Teil: $\uparrow \circ$: Perfusion des Herzens mit einer Lösung erniedrigten Calciumgehaltes (CaCl_2 0,2 mÄq/l); $\uparrow \bullet$: Perfusion wieder mit Tyrodelösung (CaCl_2 3,6 mÄq/l). S1, S2 und S3 geben den Beginn der Nervenreizungen an (10 Hz, 1 msec, 1 min Dauer entsprechend dem schwarzen Balken). Zeitlicher Abstand zwischen den Reizungen je 10 min.

Die Perfusion mit der Lösung niedrigen Calciumgehaltes ($\text{CaCl}_2 = 0,2 \text{ mÄq/l}$ gegenüber $3,6 \text{ mÄq/l}$ in Tyrodelösung) begann 7 min vor dem zweiten Reizeffekt und dauerte 10 min. Durch die elektrische Stimulation wurden an Noradrenalin $1,7 \pm 1,2 \%$ und an α -Methyladrenalin $5,3 \pm 2,5 \%$ der durch die erste Reizung abgegebenen Amine freigesetzt. Abbildung 4 vergleicht die Freisetzung bei Perfusion mit der Lösung erniedrigten Calciumgehaltes mit der bei Perfusion mit Tyrodelösung. Ein Gruppenvergleich nach Student's t-Test zeigte, daß die Herabsetzung der Katecholaminfreisetzung statistisch signifikant war: für Noradrenalin und für α -Methyladrenalin $p < 0,005$. Das Verhältnis der Katecholamine zueinander in der gesammelten Flüssigkeit variierte stark:

α -Methyladrenalin machte 55 % der Gesamtmenge der Amine aus (Extremwerte: 0 - 100 %). Diese große Schwankung kam dadurch zustande, daß bei den geringen freigesetzten Mengen in je zwei Versuchen eines der Amine im Perfusat nicht nachweisbar war.

Die anschließende dritte Reizung diente zur Kontrolle, daß das Präparat noch funktionierte. Es wurden $42 \pm 14,1 \%$ Noradrenalin und $43 \pm 13,1 \%$ α -Methyladrenalin von den bei S1 nachweisbaren Mengen freigesetzt (Abb. 4). Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Katecholamine betrug 69 (0 - 100).

Das Mechanogramm bei S1 unterschied sich, wie zu erwarten, nicht von dem der Kontrollgruppe. Bei Perfusion mit der Lösung $\text{CaCl}_2 = 0,2 \text{ mÄq/l}$ war mit der beschriebenen Registriermethode keine systolische Spannungsentwicklung der rechten Kammer und des rechten Vorhofs nachweisbar. Daher wurde auch keine Frequenz aufgezeichnet. Gleichwohl zeigten sich sehr schwache Herzaktionen an rhythmischen Veränderungen der Spiegelungen des Epidards. Das Mechanogramm bei S3 zeigte gegenüber der Kontrollgruppe keine Auffälligkeiten. Ein Beispiel für das

Mechanogramm eines Versuchsablaufs ist in Abbildung 3 dokumentiert.

Der Koronardurchfluß lag während der Perfusion mit der Lösung erniedrigten Calciumgehaltes bei $116 \pm 20,4$ % gegenüber dem bei vorhergehender elektrischer sympathischer Nervenreizung und wurde durch die zweite Nervenreizung auf $80 \pm 5,2$ % des vorhergehenden Wertes vermindert. Tabelle 2 zeigt eine Zusammenstellung der Werte der systolischen Spannungsentwicklung, der Frequenz und des Koronardurchflusses.

c) Versuche mit Methacholin 4×10^{-5} M

Die folgende Versuchsanordnung, die an sechs Herzen ausgeführt wurde, sollte den Einfluß des Methacholin auf die Freisetzung von Überträgerstoffen durch elektrische sympathische Nervenreizung prüfen. Hierzu wurde ein erster Reizeffekt von 1 min Dauer gesetzt. Dabei wurden $72 \pm 19,7$ ng Noradrenalin und $222 \pm 54,7$ ng α -Methyladrenalin in das Perfusat abgegeben. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine lag bei 78 (68 - 93).

Die Perfusion mit Methacholin - haltiger Tyrodelösung (Methacholin 4×10^{-5} M) begann 3 min vor der zweiten sympathischen Nervenreizung und dauerte 6 min lang. Die elektrische Stimulation während der vierten Minute dieser Periode setzte von Noradrenalin $11 \pm 2,5$ % und von α -Methyladrenalin 16 ± 5 % der beim ersten Effekt gemessenen Mengen frei. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin lag bei 74 (50 - 83). In Abbildung 5 wurde der Einfluß des Methacholin auf die Aminfreisetzung in S2 mit der Kontrollgruppe bei Perfusion mit Tyrodelösung verglichen. Methacholin setzte die Abgabe von Noradrenalin auf 19 % und von α -Methyladrenalin auf 25 % herab. Dieses Ergebnis lag im Gruppenvergleich mit S2 bei Perfusion mit Tyrodelösung außerhalb der Signifikanzschränken (für Noradrenalin und α -Methyladrenalin: $p < 0,005$).

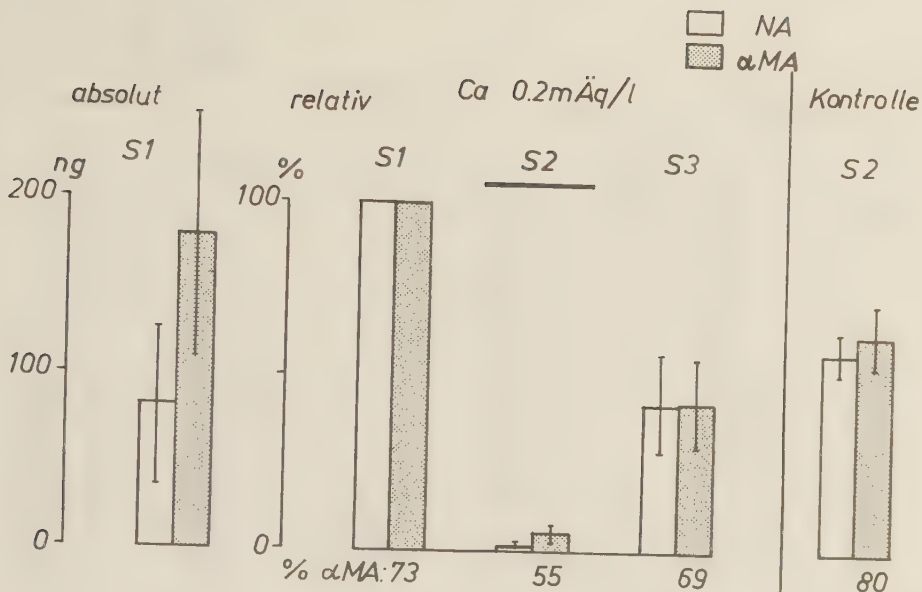


Abb. 4: Freisetzung von Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α MA) aus dem isolierten Kaninchenherzen durch drei elektrische sympathische Nervenstimulationen im Abstand von 10 min (S1, S2, S3). Während 1 min Reizung mit Rechteckimpulsen (10 Hz, 1 ms) bei supramaximaler Reizstärke. Bei S1 und S3 Perfusion mit Tyrodelösung, bei S2 Perfusion mit einer Lösung erniedrigten Calciumgehaltes. Ca 0,2 mÄq/l gibt den CaCl_2 -Gehalt an. Die Säulen stellen die Mittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ der Aminfreisetzung in ng (absolut, linker Teil der Abb.) oder in % des bei S1 erhaltenen Wertes dar (relativ, mittlerer und rechter Teil der Abb.). Ganz rechts ist der Kontrollwert für S2 aus Abb. 2 übertragen (Kontrolle). Helle Säulen: NA, dunkle Säulen: α MA. Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine: % α MA. Anzahl der Versuche: n = 6.

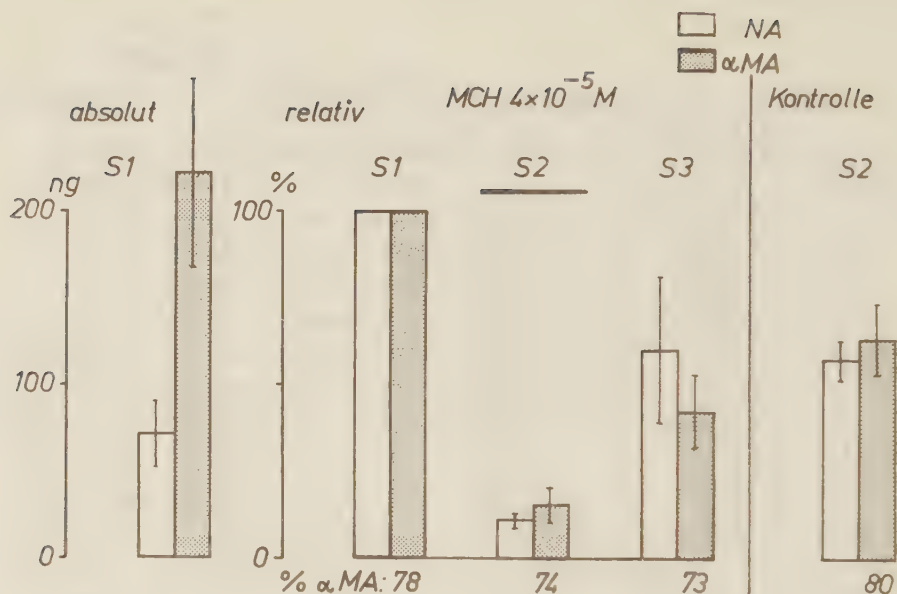


Abb. 5: Freisetzung von Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α MA) aus dem isolierten Kaninchenherzen durch drei sympathische Nervenstimulationen im Abstand von 10 min (S1, S2, S3). Während 1 min Reizung mit Rechteckimpulsen (10 Hz, 1 msec) supramaximaler Reizstärke. Bei S1 und S3 Perfusion mit Tyrodelösung, bei S2 Stimulation in Anwesenheit von Methacholin 4×10^{-5} M (MCH). Die Säulen geben die Mittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ der Aminfreisetzung in ng (absolut, linker Teil der Abb.) oder in % des bei S1 erhaltenen Wertes an (relativ, mittlerer und rechter Teil der Abb.). Ganz rechts ist der Kontrollwert für S2 aus Abb. 2 übertragen (Kontrolle). Helle Säulen: Noradrenalin, dunkle Säulen: α -Methyladrenalin. % α MA: Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine im Perfusat. Anzahl der Versuche: n = 6.

Die dritte Reizung ergab folgende Werte: $60 \pm 21,2 \%$ Noradrenalin und $42 \pm 10,5 \%$ α -Methyladrenalin der in S1 gemessenen Mengen bei einem Prozentanteil des α -Methyladrenalin von 73 (52 - 83).

Die Angaben über systolische Spannungsentwicklung der rechten Kammer und des rechten Vorhofs, die Frequenz und den Koronardurchfluß können der Tabelle 2 entnommen werden. Die bei S1 erhaltenen Werte lagen im Streubereich von S1 der beiden vorhergehenden Versuchsreihen.

Das Mechanogramm bei Perfusion mit Methacholin zeigte folgende Besonderheiten: Vier von sechs Herzen zeigten Kammerstillstand. Die mittlere systolische Spannungsentwicklung der Kammer betrug $19 \pm 12,5 \%$ des vorher gemessenen Wertes. Der Vorhof stand an fünf Herzen still. Die elektrische Reizung während der Perfusion mit Methacholin wurde in vier Fällen von der Kammer mit einem registrierbaren Effekt beantwortet: Die systolische Spannungsentwicklung betrug $47 \pm 19,2 \%$ des Wertes vor Methacholingabe. Der Vorhof zeigte einmal eine Steigerung der systolischen Spannung.

Der Koronardurchfluß bei Perfusion mit Methacholin lag bei $93 \pm 14,2 \%$ des unmittelbar vorher gemessenen Wertes. Durch die sympathische Nervenreizung wurde der Durchfluß auf $88 \pm 7 \%$ des vorangehenden Wertes vermindert.

Die bei S3 registrierten Werte zeigten keine Auffälligkeiten.

4. Chemische Nervenreizung mit der nicotinartigen Substanz PAPETA

An den Versuchsteil mit elektrischer sympathischer Nervenreizung schloß sich eine Versuchsreihe an, in der mit einer 2 min dauernden Infusion von PAPETA $3,16 \times 10^{-5}$ M eine chemische Nervenreizung durchgeführt wurde. Da für die Versuche mit PAPETA eine größere Anzahl von Herzen nötig war als für die elektrische Reizung, erfolgte an 16 Herzen eine Stimulation mit PAPETA, ohne daß eine elektrische Reizung voran-

gegangen war. Diese Gruppe von Herzen wurde 40 min lang perfundiert. Anschließend wurden wie bei den anderen Herzen auch im Abstand von 15 min drei Effekte mit PAPETA gesetzt, das Perfusat beginnend mit Infusionsanfang 3 min lang gesammelt und darin der Gehalt an Katecholaminen bestimmt (P1, P2, P3). Die in P2 und P3 erhaltenen Mengen wurden in % der bei der ersten Reizung freigesetzten Amine ausgedrückt.

a) Infusion von PAPETA bei Perfusion mit Tyrodelösung

Die folgende Versuchsreihe wurde an acht Herzen ausgeführt.

Durch die erste Gabe von PAPETA wurden 458 ± 100 ng Noradrenalin und 1275 ± 239 ng α -Methyladrenalin in das Perfusat abgegeben. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine betrug 73 (66 - 81).

Die bei dem zweiten PAPETA-Effekt freigesetzte Katecholaminmenge sollte als Kontrollwert zum Vergleich mit den weiteren Ergebnissen dienen, die durch Veränderungen der Zusammensetzung der Perfusionsflüssigkeit bei P2 erhalten wurden. Durch die zweite PAPETA-Reizung wurden an Noradrenalin $79 \pm 8,2$ % und an α -Methyladrenalin $73 \pm 6,5$ %, durch die dritte an Noradrenalin $48 \pm 8,8$ % und an α -Methyladrenalin $59 \pm 4,2$ % der bei P1 gemessenen Werte freigesetzt. In P2 betrug der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine 71 (60 - 84), in P3 71 (64 - 78). Die genannten Werte sind in Abbildung 6 verdeutlicht.

Ein Beispiel für das charakteristische Mechanogramm während der Infusion von PAPETA ist in Abbildung 7 dargestellt. Die systolische Spannungsentwicklung der rechten Kammer nahm zunächst stark ab. Von 24 Herzen, an denen der erste PAPETA-Effekt ausgewertet wurde, reagierten sechs mit Kammerstillstand. Darauf folgte eine Phase mit erhöhter systolischer Spannungsentwicklung, deren Maximum innerhalb der ersten Minute erreicht wurde und 130 ± 4 % des Ausgangswertes betrug. Danach fiel die Kontraktionskraft ab, stieg aber, wie

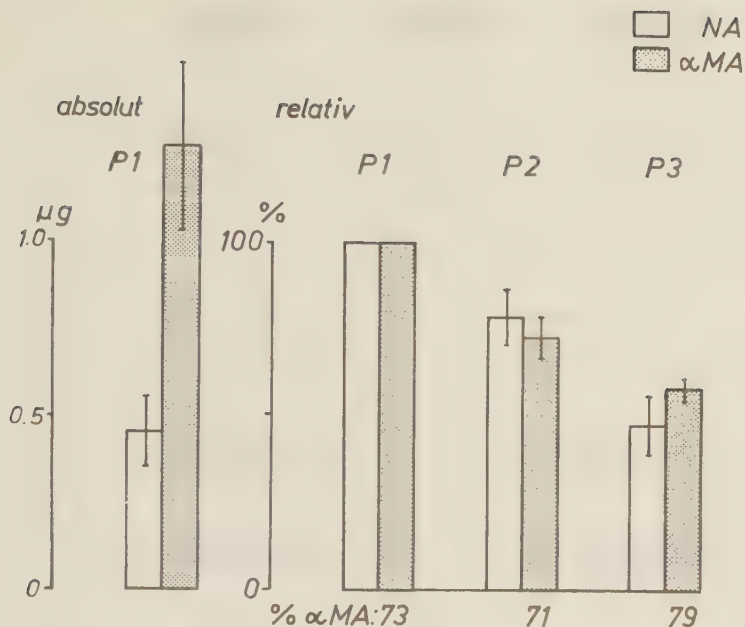


Abb. 6: Freisetzung von Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α MA) aus dem isolierten Kaninchenherzen durch drei Infusionen von PAPETA ($3,16 \times 10^{-5}$ M) 2 min lang im Abstand von 15 min (P1, P2, P3). Die Säulen geben die Mittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ der Aminfreisetzung in ng (absolut, linker Teil der Abb.) oder in % des bei P1 erhaltenen Wertes an (relativ, rechter Teil der Abb.). Helle Säulen: Noradrenalin, dunkle Säulen: α -Methyladrenalin. Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine: % α MA. Anzahl der Versuche: n = 8.

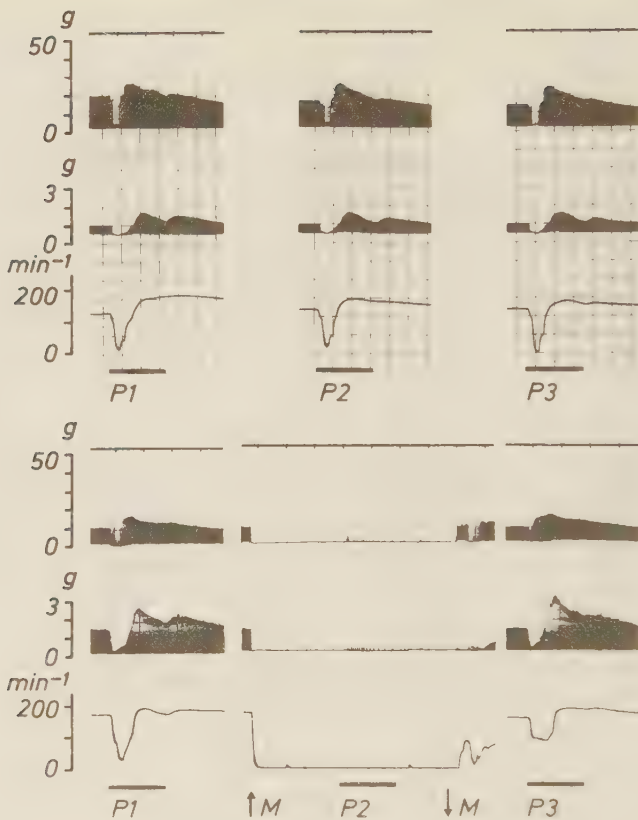


Abb. 7: Wirkung der PAPETA-Gabe auf das Mechanogramm des isolierten Kaninchenherzens. Registrierungen von oben nach unten: Zeit (min), systolische Spannungsentwicklung der rechten Herzkammer (g), systolische Spannungsentwicklung des rechten Vorhofes (g) und Kammerfrequenz (min⁻¹). Oberer Teil bei Perfusion des Herzens mit Tyrodelösung. Im unteren Teil zusätzlich Gabe von Methacholin 4×10^{-5} M, deren Beginn durch $\uparrow M$, deren Ende durch $\downarrow M$ gekennzeichnet ist. P1, P2 und P3 bezeichnen den Beginn der PAPETA-Infusion, während der schwarze Balken ihre Dauer anzeigt. Zeitlicher Abstand zwischen den Effekten je 15 min.

der Abbildung 7 zu entnehmen ist, nach Umschalten auf die PAPETA-freie Perfusionslösung wieder gering an.

Der Vorhof reagierte in ähnlicher Weise. In 19 von 24 Fällen konnte eine systolische Spannungsentwicklung kurze Zeit nach PAPETA-Gabe nicht mehr registriert werden. Danach stieg sie steil an und erreichte am Ende der ersten Minute ihr Maximum mit 260 ± 47 % des Ausgangswertes, um dann wieder abzusinken. Die sekundäre Kontraktionskraftsteigerung nach Umschalten auf Tyrodelösung wurde in jedem Fall beobachtet.

Die Kammerfrequenz fiel zunächst auf 26 ± 8 %, stieg dann aber auf 127 ± 4 % des Ausgangswertes an.

Der Koronardurchfluß sank unter dem Einfluß des PAPETA auf 86 ± 8 % des Wertes vor der Infusion. Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die Veränderung des Koronardurchflusses und des Mechanogramms durch die drei aufeinander folgenden Reizungen mit PAPETA. Die bei P2 und P3 erhaltenen Werte unterschieden sich nicht wesentlich von denen bei P1 und werden deshalb nicht gesondert beschrieben. Abbildung 7 (oberer Teil) zeigt die Mechanogramme von drei PAPETA-Effekten.

b) Infusion von PAPETA bei Perfusion mit einer Lösung er- niedrigten Calciumgehaltes

Diese Versuchsreihe an zehn Herzen sollte prüfen, ob die Verminderung von Calciumionen in der Perfusionsflüssigkeit die Freisetzung von Katecholaminen nach PAPETA-Gabe beeinflusst. Eine erste PAPETA-Infusion diente als Referenzstimulation. Dabei wurden 320 ± 46 ng Noradrenalin und 890 ± 102 ng α -Methyladrenalin freigesetzt. Letzteres machte an der Summe der Amine einen Anteil von 74 (66 - 81) % aus.

Die Herzen wurden 10 min vor dem zweiten Effekt beginnend mit einer Lösung vom Calciumgehalt $0,2 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ perfundiert. Alle anderen Bestandteile der Lösung entsprachen der Zusammensetzung von Tyrodelösung. Der PAPETA-Reiz während der Verminderung des extracellulären Calciums setzte an Noradrenalin $9 \pm 1,5$ % und an α -Methyladrenalin $9 \pm 1,8$ % der in P1 ge-

Tab. 3: Der Einfluß einer Infusion von PAPETA auf Koronardurchfluß und Mechanogramm des Kaninchenherzens

<u>P 1</u>					
Versuchsreihe	D	Ka	Vo	Fr ↓	Fr ↑
1 (n=8)	86± 8,0	160±13	260± 47	26± 8	127± 4
2	84± 7,2 (n=10)	150±12 (n=8)	300± 33 (n=9)	57±11 (n=9)	140±14 (n=9)
3 (n=5)	87± 3,5	206±23	438± 60	63±18	122± 4
4 (n=4)	106± 5,8	193±20	576±254	24±14	125± 3
5 (n=6)	105±26,4	270±40	221± 21	32±15	119± 5
6 (n=6) Atr.	95± 1,7	186± 7	550±110	-	176± 3

<u>P 3</u>					
	D	Ka	Vo	Fr ↓	Fr ↑
1 (n=8)	91±3,6	175±17	394±146	32±10	120± 5
2 (n=10)	90±6,2	150± 7 (n=9)	420± 95 (n=9)	63±10 (n=9)	130± 4
3 (n=5)	80±5	250±31	605±146	59±17	123± 5
4 (n=4)	88±8	199±18	392± 93	35±12	126± 5
5 (n=6)	85±6,7	248±23	244± 20	53±12	138±18
6 (n=5) Atr.	88±2,6	245±24	930±410	-	163± 7

Aus Gründen der Übersicht und Vergleichbarkeit der Werte P1 mit P3 wird P2 auf einer separaten Seite dargestellt.

Fortsetzung Tab. 3

Perfusion mit veränderter Lösung

p 2										
		D	Ka	Vo	Fr	D	Ka	Vo	Fr↓	Fr↑
1	Kontrolle (n=8)	-	-	-	-	89+3,2 (n=7)	170+13	310+71	33+10	130+ 4
2	Ca ⁺⁺ 0,2 mÄq/l	-	0 (n=9)	0	0	89+6,1 (n=9)	0	0	0	0
3	MCH 2,5x10 ⁻⁶ M (n=5)	114+9,7	60+24	21+12,3	37+14,8	71+3,7 ⁺	195+24	163+70	-	72+ 7,6
4	MCH 10 ⁻⁵ M (n=4)	142+25 (n=3)	11+6,3	4+ 3,5	12+ 8,0	70+1,5 ⁺ (n=3)	129+23	10+6,9	-	47+13,7
5	MCH 4x10 ⁻⁵ M (n=6)	122+21	5+4,6	0	4,3+4,3	79+3,8 ⁺	63+24,6	7+2,8	-	18+ 6,8
6	MCH + Atr.	91+3,9 (n=5)	98+5,2	39+ 6,5	83+ 6,5	91+2,1 ⁺ (n=5)	214+16	528+111	-	151+12

⁺bezogen auf MCH-Vorlauf

Legende zu Tab. 3:

Dargestellt ist der Einfluß dreier 2 min langer Infusionen von PAPETA $3,16 \times 10^{-5}$ M auf den Koronardurchfluß und das Mechanogramm des isolierten Kaninchenherzens (P1, P2, P3). Bei P1 und P3 Perfusion mit Tyrodelösung. Bei P2 Veränderung der Zusammensetzung der Perfusionsflüssigkeit in den Versuchsreihen 1 - 6: 1. Tyrodelösung (Kontrolle); 2. Perfusionslösung mit erniedrigtem Calciumgehalt von $0,2 \text{ mÄq/l}$ (Ca gibt den Calciumchloridgehalt an), Reizeffekt nach 10 min dauernder Perfusion mit dieser Lösung; 3. Tyrodelösung mit Methacholin (MCH) $2,5 \times 10^{-6}$ M; 4. Tyrodelösung mit MCH 10^{-5} M; 5. Tyrodelösung mit MCH 4×10^{-5} M; 6. Hier war Atropinsulfat $1,4 \times 10^{-6}$ M (Atr.) beginnend 8 min vor dem ersten Reizeffekt der Perfusionslösung zugesetzt. Bei P2 zusätzlich MCH 4×10^{-5} M. In jeder der Versuchsreihen mit Methacholin wurde diese Substanz, beginnend 3 min vor der zweiten PAPETA-Reizung, 6 min lang perfundiert.

D: Koronardurchfluß in % des Wertes vor dem Reizeffekt,

Ka: maximale systolische Spannungsentwicklung der rechten Kammer in % des Ausgangswertes,

Vo: maximale systolische Spannungsentwicklung des rechten Vorhofes in % des Ausgangswertes,

Fr↓: maximale initiale Frequenzerniedrigung und

Fr↑: maximale Frequenzsteigerung, je in % des Ausgangswertes.

Die Anzahl der Versuche gibt n an.

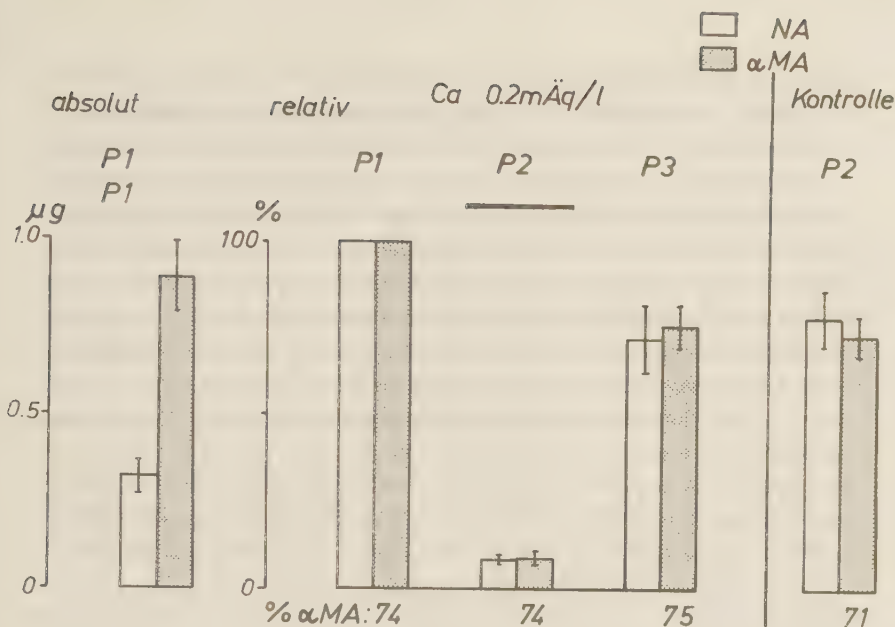


Abb. 8: Freisetzung von Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α MA) aus dem isolierten Kaninchenherzen durch drei Infusionen von PAPETA $3,16 \times 10^{-5}$ M während 2 min im Abstand von 15 min (P1, P2, P3). Bei P1 und P3 Perfusion mit Tyrodelösung ($\text{CaCl}_2 = 3,6 \text{ mÄq/l}$), bei P2 Perfusion mit einer Lösung erniedrigten Calciumgehaltes. Ca 0,2 mÄq/l gibt den Gehalt an CaCl_2 an. Die Säulen geben die Mittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ der Aminfreisetzung in ng (absolut, linker Teil der Abb.) oder in % des bei P1 erhaltenen Wertes (relativ, mittlerer und rechter Teil der Abb.). Ganz rechts ist der Kontrollwert für P2 aus Abb. 6 übertragen (Kontrolle). Helle Säulen: NA, dunkle Säulen: α MA. Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine: % α MA. Anzahl der Versuche: n = 10.

messenen Werte frei. Ein Vergleich mit der Gruppe P2 bei Perfusion mit Tyrodelösung zeigte, daß bei Verminderung von Calcium von Noradrenalin nur 11% und von α -Methyladrenalin 13 % der in der Kontrollgruppe gemessenen Mengen freigesetzt wurden. Die statistische Signifikanz des Unterschieds wurde nachgeprüft und ergab nach der t-Verteilung eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.005$ für beide Amine. Abbildung 8 zeigt den Einfluß des Calciumentzuges auf die Aminfreisetzung. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine betrug 74 (60 - 90).

Die dritte Reizung sollte die Reversibilität der Veränderungen unter Calciumentzug nachweisen. Es wurden 72 ± 10 % Noradrenalin und $76 \pm 6,6$ % α -Methyladrenalin der in P1 gemessenen Werte abgegeben. Der "falsche" Überträgerstoff machte dabei 75 (59 - 89) % der Summe beider Amine aus.

Die während P1 und P3 erhaltenen Werte für systolische Spannungsentwicklung, Frequenz und Koronardurchfluß sind der Tabelle 3 zu entnehmen. Gesondert beschrieben sei der Einfluß des Calciumentzuges auf die mechanische Funktion des Herzens: Vorhof und Kammer standen still. Der Koronardurchfluß lag bei $104 \pm 12,4$ % des Wertes bei normalem Calciumgehalt. Während PAPETA-Reizung verminderte er sich auf $89 \pm 6,1$ % des vorigen Wertes.

c) Infusion von PAPETA in Anwesenheit von Methacholin

Die folgenden Versuchsreihen sollten prüfen, ob Methacholin einen Einfluß auf die PAPETA-bedingte Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin hat. Drei Infusionen von PAPETA $3,16 \times 10^{-5}$ M erfolgten im Abstand von 15 min und dauerten 2 min lang. Eine erste PAPETA-Reizung stellte die individuellen Bezugswerte für den zweiten und dritten Effekt her. Die Perfusion mit Methacholin-haltiger Tyrodelösung setzte 12 min nach Beginn des ersten Reizes ein, dauerte 6 min

lang und wurde 3 min nach Beginn des zweiten Reizes beendet. Geprüft wurden drei verschiedene Konzentrationen von Methacholin: $2,5 \times 10^{-6}$ M, 10^{-5} M, 4×10^{-5} M. Im folgenden werden die Versuchsergebnisse für die verschiedenen Methacholinkonzentrationen gesondert besprochen. Eine graphische Darstellung der beim zweiten PAPETA-Reiz freigesetzten Amine, bezogen auf die in P1 enthaltenen Mengen, findet sich in Abbildung 10. Eine Zusammenstellung des beobachteten Einflusses von PAPETA auf systolische Spannungsentwicklung von Kammer und Vorhof, auf Schlagfrequenz und auf Koronardurchfluß in Anwesenheit von Methacholin findet sich in Tabelle 3.

Versuche mit Methacholin $2,5 \times 10^{-6}$ M

Der erste Reizeffekt an den fünf Herzen setzte 410 ± 48 ng Noradrenalin und 1050 ± 133 ng α -Methyladrenalin, welches 72 (67 - 75) % der Summe der Amine darstellte, frei. Die maximale systolische Spannungsentwicklung der Kammer betrug 206 ± 20 %, die des Vorhofes 438 ± 60 % des Ausgangswertes. Die Frequenz sank zunächst auf 63 ± 18 %, stieg dann auf 122 ± 4 % des Wertes vor dem Reizeffekt. Der Koronardurchfluß wurde auf $87 \pm 3,5$ % des Wertes vor der Reizung herabgesetzt. Die Anwesenheit von Methylcholin $2,5 \times 10^{-6}$ M verminderte die systolische Spannungsentwicklung der Kammer auf 60 ± 24 % des Vorhofes auf 21 ± 12 %, die Schlagfrequenz auf $37 \pm 14,8$ % des Wertes bei Perfusion mit Tyrodelösung.

Der zweite PAPETA-Effekt bewirkte eine Abgabe von $55 \pm 4,6$ % Noradrenalin und $60 \pm 6,7$ % α -Methyladrenalin des bei P1 gemessenen Wertes. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine betrug 75 (71 - 80). Die systolische Spannungsentwicklung der Kammer hatte ihr Maximum bei 195 ± 24 %, die des Vorhofes bei 163 ± 70 % der vor Methacholingabe registrierten Bezugswerte. Durch die Reizung stieg zwar die Herzfrequenz auf das Doppelte an, erreichte aber mit 72 ± 8 % nicht den Ausgangswert vor Methacholingabe.

Versuche mit Methacholin 10^{-5} M

Durch die erste PAPETA-Infusion an vier Herzen wurden 280 ± 43 ng Noradrenalin und 720 ± 58 ng α -Methyladrenalin freigesetzt. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Katecholamine betrug 73 (68 - 79). Das Mechanogramm und der Koronardurchfluß veränderte sich in ähnlicher Weise wie bei den vorherigen Bezugsreizungen. Die Werte dafür können der Tabelle 3 entnommen werden.

Die bei der niedrigen Methacholinkonzentration aufgetretenen Auswirkungen zeigten sich in verstärktem Maße auch in Anwesenheit von Methacholin 10^{-5} M. So wurde die systolische Spannungsentwicklung der Kammer auf $11 \pm 6,3$ % des unmittelbar vorher ablesbaren Wertes herabgesetzt. Der Vorhof reagierte nur in einem Fall mit schwachen Kontraktionen. Zwei Herzen zeigten Stillstand; der Mittelwert der Frequenz lag bei 12 ± 8 % des vorher gemessenen Wertes. Der Koronardurchfluß betrug 142 ± 25 % des Wertes vor Methacholingabe.

PAPETA-Infusion während der Methacholingabe bewirkte eine Freisetzung von $39 \pm 6,5$ % Noradrenalin und $32 \pm 10,2$ % α -Methyladrenalin der bei der ersten Reizung gemessenen Mengen. Gegenüber den Kontrollreizungen bei Perfusion mit Tyrodelösung wurden an Noradrenalin nur 49 % und an α -Methyladrenalin nur 44 % freigesetzt. Im t-Test unterschieden sich die beiden Versuchsgruppen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ und lagen damit außerhalb der Signifikanzschranken, die in dieser Arbeit festgesetzt wurden. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine betrug 69 (50 - 77).

Während der PAPETA-Gabe betrug die systolische Spannungsentwicklung der Kammer 129 ± 23 % des Wertes vor Perfusion mit Methacholin-haltiger Lösung. Der Vorhof zweier Herzen reagierten überhaupt nicht mit Kontraktionen, bei zwei weiteren zeigte sich eine geringe systolische Spannungsentwicklung von

$10 \pm 6,9$ % des Wertes vor Methacholininfusion. Der Frequenzanstieg erreichte sein Maximum bei $47 \pm 13,7$ % der Frequenz bei Perfusion mit Tyrodelösung.

Die dritte PAPETA-Infusion setzte 70 ± 10 % Noradrenalin und $69 \pm 7,4$ % α -Methyladrenalin der in P1 nachgewiesenen Mengen frei. Dabei bestand die Summe der Amine zu 73 (69 - 75) % aus α -Methyladrenalin. Tabelle 3 gibt über die weiterhin gemessenen Daten Auskunft.

Versuche mit Methacholin 4×10^{-5} M

Mit vierfacher Dosis wurde die vorherige Versuchsanordnung wiederholt. Der erste PAPETA-Reiz setzte 420 ± 92 ng Noradrenalin und 1000 ± 155 ng α -Methyladrenalin frei. Der Anteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine betrug 71 (66 - 80) %. Das Mechanogramm und der Durchfluß unterschieden sich nicht von denen anderer Versuchsreihen und können der Tabelle 3 entnommen werden.

Die hohe Methacholindosis führte an fünf der verwendeten sechs Herzen zu Kammerstillstand, in allen Fällen zu Vorhofstillstand. Der Koronardurchfluß lag bei 122 ± 21 % des unmittelbar vorher gemessenen Wertes.

Infolge der Perfusion mit Methacholin wurde während PAPETA-Infusion noch $17 \pm 3,8$ % Noradrenalin und $16 \pm 2,5$ % α -Methyladrenalin der bei der ersten Reizung freigesetzten Aminmengen abgegeben. Vergleicht man diese Werte mit der PAPETA-bedingten Freisetzung bei Perfusion mit Tyrodelösung, so läßt sich errechnen, daß in Anwesenheit von Methacholin 4×10^{-5} M in der Perfusionslösung nur je 22 % der in der Kontrollgruppe vorhandenen Mengen nachweisbar war. Der t-Test zeigte, daß die Versuchsergebnisse bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,005$ verschieden waren. Methacholin setzte also die Aminfreisetzung auf ein Fünftel herab. Der Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine betrug 73 (62 - 83).

PAPETA-Gabe bewirkte eine systolische Spannungsentwicklung der Kammer von 63 ± 25 % und des Vorhofs von $7 \pm 2,8$ % des Wertes vor Methacholingabe. Das Frequenzmaximum lag bei $18 \pm 6,8$ % des Wertes vor Methacholineinfluß.

Durch den dritten PAPETA-Reiz, der die Reversibilität des Methacholineinflusses nachweisen sollte, wurden $73 \pm 3,8$ % Noradrenalin und $81 \pm 5,7$ % α -Methyladrenalin der in P1 enthaltenen Mengen gemessen. Dabei setzte sich die Summe der Amine zu 74 (67 - 81) % aus α -Methyladrenalin zusammen. Die Werte des Mechanogramms und des Durchflusses sind in Tabelle 3 angeführt. Ein Mechanogramm eines Einzelversuches ist in Abbildung 7 zu finden. Die Effekte von drei im Abstand von 15 min erfolgten PAPETA-Infusionen bei Perfusion mit Tyrodelösung sind zum Vergleich mit drei Effekten abgebildet, von denen der mittlere unter Einfluß von Methacholin 4×10^{-5} M abläuft. Abbildung 9 (linker Teil) gibt eine graphische Darstellung der in dieser Versuchsanordnung freigesetzten Aminmengen.

d) Infusion von PAPETA bei Perfusion mit Atropin-haltiger Lösung und Einfluß von Methacholin

Die verwendeten sechs Herzen wurden in dieser Versuchsreihe 8 min vor der ersten PAPETA-Reizung beginnend mit Tyrodelösung perfundiert, der Atropinsulfat $1,4 \times 10^{-6}$ M zugesetzt war. Es sollte geprüft werden, ob die Wirkung des Methacholin durch Atropin aufgehoben wird. Um aber auszuschließen, daß Atropin die Freisetzung von Transmittersubstanzen während P2 direkt beeinflußt, wurde es schon vor dem ersten PAPETA-Effekt der Perfusionslösung beigelegt und während des ganzen Versuchsablaufes beibehalten.

Die durch den ersten PAPETA-Reiz freigesetzten Aminmengen waren 250 ± 39 ng Noradrenalin und 800 ± 98 ng α -Methyladrenalin, dessen Prozentanteil an der Summe der Amine 77 (73 - 81) betrug.

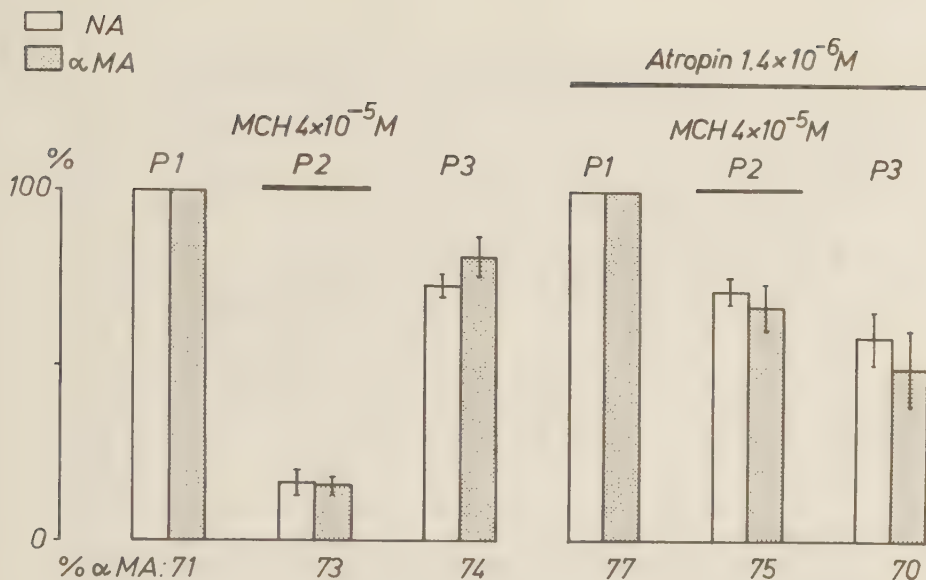


Abb. 9: Freisetzung von Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α MA) aus dem isolierten Kaninchenherzen durch drei Infusionen von PAPETA $3,16 \times 10^{-5} M$ während 2 min im Abstand von 15 min (P1, P2, P3). Im linken Teil der Abbildung Perfusion mit Tyrodelösung, im rechten Teil Perfusion mit Atropin-haltiger Tyrodelösung (Atropin $1,4 \times 10^{-6} M$). Der zweite PAPETA-Effekt erfolgt in Anwesenheit von Methacholin $4 \times 10^{-5} M$ (MCH).

Die Säulen geben die Mittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ der Aminfreisetzung in % des bei P1 erhaltenen Wertes an. Helle Säulen:

Noradrenalin, dunkle Säulen: α -Methyladrenalin. Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine: % α MA.

Anzahl der Versuche: je $n = 6$.

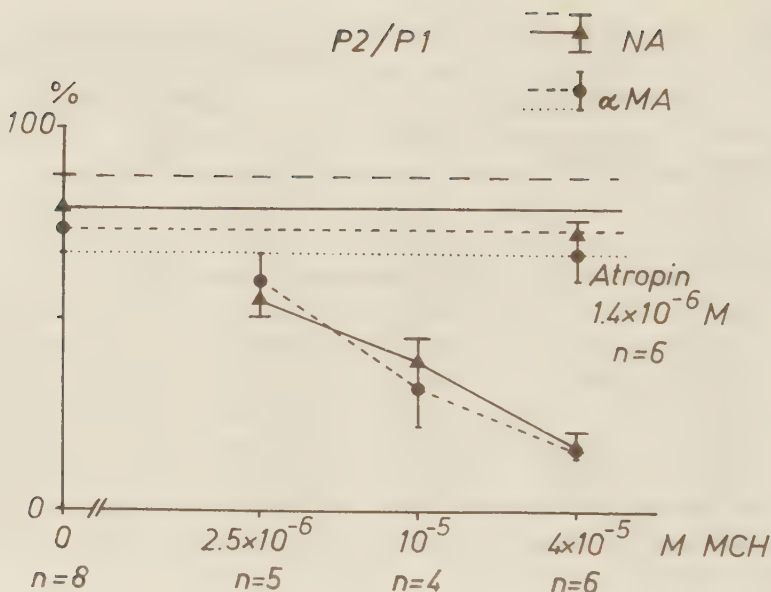


Abb. 10: Der Einfluß verschiedener Konzentrationen von Methacholin (MCH) auf die Freisetzung von Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α MA) durch Infusion von PAPETA.

Abszisse: Molare Konzentration von Methacholin in log. Maßstab.
 Ordinate: Die beim zweiten Reizeffekt freigesetzten Aminmengen P2 in % der beim ersten Effekt freigesetzten.

Symbole mit horizontalen Strichen: Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$.
 Die horizontalen Linien und zugehörigen Streuungen ($s_{\bar{x}}$) geben das %-Verhältnis P2/P1 der Kontrollversuche für NA ($\blacktriangle$) und MA ($\bullet$) an. Weiterhin dargestellt ist der Effekt von Atropin plus Methacholin 4×10^{-5} M (Atropin).

Die systolische Spannungsentwicklung der Kammer wurde auf 186 ± 7 % die des Vorhofes auf 550 ± 110 % des vorher gemessenen Wertes erhöht. Die bei Kontrollreizung meist beobachtete anfängliche Abnahme der systolischen Spannungsentwicklung fehlte. Der Frequenzverlauf zeigte in keinem Fall die für PAPETA-Reizung bei Perfusion mit Tyrodelösung typische primäre Verminderung. Der Anstieg war stärker ausgeprägt als in den Kontrollreizungen und betrug 176 ± 3 % des Wertes vor PAPETA-Gabe.

Die Anwesenheit von Methacholin 4×10^{-5} M verminderte den Koronardurchfluß auf $91 \pm 3,9$ % des Wertes davor. Die systolische Spannungsentwicklung der Kammer wurde nicht beeinflusst, dagegen die des Vorhofes auf 39 ± 15 % des Wertes vor Methacholininfusion herabgesetzt. Die Frequenz sank auf $83 \pm 6,5$ %.

Die PAPETA-Infusion in Anwesenheit von Atropin und Methacholin setzte von den bei der ersten Reizung gemessenen Mengen 72 ± 4 % Noradrenalin und $67 \pm 7,2$ % α -Methyladrenalin frei. Diese Werte sind statistisch nicht zu unterscheiden von denen, die nach PAPETA-Reizung bei Perfusion mit Tyrodelösung gemessen wurden. Atropinsulfat $1,4 \times 10^{-6}$ M antagonisierte also den Einfluß von Methacholin 4×10^{-5} M.

Die systolische Spannungsentwicklung der Kammer betrug 214 ± 16 % und die des Vorhofes 528 ± 110 % der Werte die bei Perfusion mit Atropin-haltiger Tyrodelösung gemessen wurden. Darauf bezogen fand sich auch eine Frequenzerhöhung auf 151 ± 12 %.

Die dritte PAPETA-Reizung setzte $59 \pm 8,4$ % Noradrenalin und 50 ± 11 % α -Methyladrenalin der in P1 gemessenen Mengen frei. Dabei betrug der Prozentanteil des α -Methyladrenalin 70 (40 - 87).

Die restlichen Werte sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Abbildung 9 (rechter Teil) stellt die freigesetzten Aminmengen nach PAPETA-Infusionen dar. In dieser Abbildung wird der Einfluß des Atropin auf den Effekt des Methacholin sichtbar.

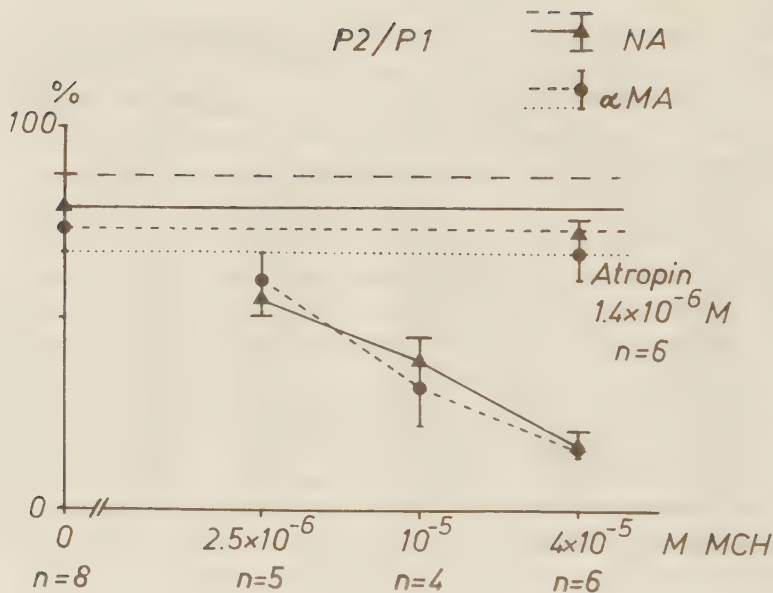


Abb. 10: Der Einfluß verschiedener Konzentrationen von Methacholin (MCH) auf die Freisetzung von Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α MA) durch Infusion von PAPETA.

Abszisse: Molare Konzentration von Methacholin in log. Maßstab.
 Ordinate: Die beim zweiten Reizeffekt freigesetzten Aminmengen P2 in % der beim ersten Effekt freigesetzten.

Symbole mit horizontalen Strichen: Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$.
 Die horizontalen Linien und zugehörigen Streuungen ($s_{\bar{x}}$) geben das %-Verhältnis P2/P1 der Kontrollversuche für NA ($\blacktriangle$) und MA ($\bullet$) an. Weiterhin dargestellt ist der Effekt von Atropin plus Methacholin 4×10^{-5} M (Atropin).

Die systolische Spannungsentwicklung der Kammer wurde auf 186 ± 7 % die des Vorhofes auf 550 ± 110 % des vorher gemessenen Wertes erhöht. Die bei Kontrollreizung meist beobachtete anfängliche Abnahme der systolischen Spannungsentwicklung fehlte. Der Frequenzverlauf zeigte in keinem Fall die für PAPETA-Reizung bei Perfusion mit Tyrodelösung typische primäre Verminderung. Der Anstieg war stärker ausgeprägt als in den Kontrollreizungen und betrug 176 ± 3 % des Wertes vor PAPETA-Gabe.

Die Anwesenheit von Methacholin 4×10^{-5} M verminderte den Koronardurchfluß auf $91 \pm 3,9$ % des Wertes davor. Die systolische Spannungsentwicklung der Kammer wurde nicht beeinflusst, dagegen die des Vorhofes auf 39 ± 15 % des Wertes vor Methacholininfusion herabgesetzt. Die Frequenz sank auf $83 \pm 6,5$ %.

Die PAPETA-Infusion in Anwesenheit von Atropin und Methacholin setzte von den bei der ersten Reizung gemessenen Mengen 72 ± 4 % Noradrenalin und $67 \pm 7,2$ % α -Methyladrenalin frei. Diese Werte sind statistisch nicht zu unterscheiden von denen, die nach PAPETA-Reizung bei Perfusion mit Tyrodelösung gemessen wurden. Atropinsulfat $1,4 \times 10^{-6}$ M antagonisierte also den Einfluß von Methacholin 4×10^{-5} M.

Die systolische Spannungsentwicklung der Kammer betrug 214 ± 16 % und die des Vorhofes 528 ± 110 % der Werte die bei Perfusion mit Atropin-haltiger Tyrodelösung gemessen wurden. Darauf bezogen fand sich auch eine Frequenzerhöhung auf 151 ± 12 %.

Die dritte PAPETA-Reizung setzte $59 \pm 8,4$ % Noradrenalin und 50 ± 11 % α -Methyladrenalin der in P1 gemessenen Mengen frei. Dabei betrug der Prozentanteil des α -Methyladrenalin 70 (40 - 87).

Die restlichen Werte sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Abbildung 9 (rechter Teil) stellt die freigesetzten Aminmengen nach PAPETA-Infusionen dar. In dieser Abbildung wird der Einfluß des Atropin auf den Effekt des Methacholin sichtbar.

Ähnlichen Inhalt hat Abbildung 10: Darin wird eine Dosis-wirkungskurve des Methacholin für drei Konzentrationen gezeigt. Außerdem wird die Aufhebung des Methacholineffektes durch Atropin demonstriert und gezeigt, wie hoch die Kontrollwerte liegen.

5. Gehalt der Herzen an Katecholaminen

Nach der oben beschriebenen Methode wurden an fünf Herzen 20 min nach Ende der Infusion von α -Methyladrenalin die Katecholamine extrahiert und bestimmt. Dabei wurden folgende Aminmengen pro g Herzgewicht nachgewiesen: 782 ± 62 ng Noradrenalin und 2260 ± 214 ng α -Methyladrenalin. Der Prozentanteil des "falschen" Transmitterstoffes betrug an der Summe der Amine 70 (64 - 74).

Zum Ende einer jeden Perfusion der Herzen wurde das Herzgewicht bestimmt und der Katecholamingehalt nach Extraktion der Amine bestimmt. Die gefundenen Werte wurden nach Gruppen geordnet. Das Einteilungsprinzip war das der vorausgehenden Veränderungen der Perfusionsflüssigkeit bei der chemischen Nervenreizung. Tabelle 4 zeigt eine Aufstellung der Mittelwerte des Amingehaltes in den Herzen, die bei den einzelnen Versuchsreihen verwendet worden waren.

α -Methyladrenalin war immer in demjenigen Verhältnis zu Noradrenalin freigesetzt worden, in welchem es sich im Extrakt des Herzens nach Ende der Perfusion nachweisen ließ. Dieses Ergebnis wurde geprüft mit Hilfe des Rangfolgetestes nach WILCOXON. Dabei ergab sich kein Widerspruch gegen die Annahme, daß sämtliche Stichproben der Prozentanteile des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine einer Grundgesamtheit entsprächen, mit der auch die in den Herzextrakten gefundenen übereinstimmte.

Tab. 4: Dargestellt ist der Gehalt der Herzen an Noradrenalin und an α -Methyladrenalin in ng/g Herz. % α MA: Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine. Die erste Spalte zeigt die Zugehörigkeit der Herzen zu der vorausgehenden Versuchsreihe mit PAPETA an (wie in Tab. 3; s. Legende zu Tab. 3).

	Noradrenalin (ng/g)	α -Methyladrenalin (ng/g)	% α MA
Kontrollversuche (n = 8)	290 $\pm$ 54	707 $\pm$ 101	71 (64 - 78)
Ca 0,2 mM/l (n = 10)	210 $\pm$ 36	609 $\pm$ 81	74 (63 - 86)
MCH 2,5 x 10 ⁻⁶ M (n = 5)	303 $\pm$ 70	677 $\pm$ 62	70 (54 - 79)
MCH 10 ⁻⁵ M (n = 4)	155 $\pm$ 30	495 $\pm$ 132	75 (70 - 81)
MCH 4 x 10 ⁻⁵ M (n = 6)	255 $\pm$ 30	642 $\pm$ 26	72 (66 - 81)
MCH 4 x 10 ⁻⁵ M + Atr. (n = 6)	148 $\pm$ 10	476 $\pm$ 48	76 (69 - 82)

D. DISKUSSION

Die Freisetzung von Noradrenalin durch elektrische Stimulation sympathischer Nerven wird durch muskarinische Substanzen dosisabhängig vermindert. Am isolierten Kaninchenherzen haben dies LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL (1969) für Acetylcholin und FOZARD und MUSCHOLL (1972) für Methacholin und andere Verbindungen nachgewiesen. Bei den Versuchen mit Acetylcholin konnte die hemmende Wirkung auf die Noradrenalinabgabe aus den terminalen Nervenfasern mit Atropin vollständig antagonisiert werden, nicht jedoch mit Hexamethonium. Dies zeigt, daß die Hemmung muskarinartig ist und nicht nicotinartig.

Verschiedene Autoren haben Hinweise auf Muskarinrezeptoren an den terminalen Nervenfasern gefunden. Die Erregung dieser Rezeptoren führt zu einer Verminderung der Freisetzung von Noradrenalin. An der Katzenmilz verminderte Carbachol die Abgabe von Noradrenalin in die Vene nach sympathischer Nervenreizung (KIRPEKAR, PRAT, PUIG und WAKADE, 1972). Nach Markierung mit ^3H -Noradrenalin setzte Acetylcholin an der Ohrarterien des Kaninchens den radioaktiven Efflux herab, der durch Stimulation der periarteriellen Nerven hervorgerufen war. (ALLEN, GLOVER, RAND und STORY, 1972; STEINSLAND, FURCHGOTT und KIRPEKAR, 1973). Alle diese Effekte konnten mit Atropin aufgehoben werden.

In der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, ob die muskarinische Hemmung, die bisher nur für die Freisetzung von Noradrenalin nachgewiesen war, auch auf die Abgabe von

α -Methyladrenalin, einem Vertreter der Substanzgruppe "falsche" Überträgerstoffe, wirkt. Es wurde gezeigt daß Noradrenalin und α -Methyladrenalin durch elektrische Stimulation sympathischer Nerven in geringerem Maße aus dem isolierten Kaninchenherzen freigesetzt wurde, wenn der Perfusionsflüssigkeit 3 min vor Reizbeginn Methacholin

4×10^{-5} M beigelegt wurde (Abb. 5; Tab. 2). Dabei wurde der "falsche" Überträgerstoff in dem Verhältnis freigesetzt, in dem er auch durch die Kontrollreizungen in das Perfusat abgegeben wurde. Derselbe Prozentanteil des α -Methyladrenalin an der Summe der Amine wurde auch festgestellt, wenn die Überträgerstoffe durch chemische Nervenreizung mit der nicotinartigen Substanz PAPETA freigesetzt wurden.

In früheren Untersuchungen wurde als Substanz mit nicotinartiger Wirkung häufig Dimethylphenylpiperazinium (DMPP) verwendet. Die Freisetzung von Noradrenalin aus dem Kaninchenherzen durch DMPP wurde dosisabhängig vermindert, wenn muskarinisch wirksame Verbindungen der Perfusionslösung zugesetzt wurden (LINDMAR, LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL, 1968; FOZARD und MUSCHOLL, 1972). Auch in diesen Versuchen war der hemmende Einfluß in jedem Fall durch Atropin aufhebbar.

In der vorliegenden Arbeit wurde als spezifisch nicotinartig wirksame Substanz PAPETA (BARLOW und FRANKS, 1971) verwendet. PAPETA setzte am isolierten Kaninchenherzen Noradrenalin frei, und diese Abgabe wurde von Methacholin dosisabhängig vermindert (MUSCHOLL, 1973). Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu prüfen, ob der hemmende Einfluß des Methacholin auch für die Freisetzung des α -Methyladrenalin durch PAPETA zu beobachten ist. Tatsächlich wurde die Abgabe von Noradrenalin und α -Methyladrenalin durch Methacholin dosisabhängig vermindert (Abb. 9 und 10). Die Zusammensetzung der Summe der Amine unterschied sich dabei nicht von der der Kontrollmengen. Die Wirkung der höchsten Dosis von Methacholin wurde durch Atropin vollständig aufgehoben (Abb. 9 und 10, Tab. 3). Dies bestätigt, daß der Effekt von Methacholin auf einer Erregung von Muskarinrezeptoren beruht.

Es ist verschiedentlich nachgewiesen worden, daß die Freisetzung von Noradrenalin durch bestimmte Reize nur in Anwesenheit von extracellulären Calciumionen funktioniert. Dies gilt für die elektrische Stimulation sympathischer Nerven (HUKOVIC und MUSCHOLL, 1962; BOULLIN, 1967), für nicotinartige Substanzen (LINDMAR, LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL, 1967; LÖFFELHOLZ, 1967) und hohe Kaliumkonzentrationen (KIRPEKAR und WAKADE, 1968). In dieser Arbeit wurde gezeigt, daß die Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin durch elektrische sympathische Nervenreizung und durch die nicotinartige Substanz PAPETA sehr stark vermindert wird, wenn der Calciumgehalt der Lösung von 3,6 auf 0,2 mMq/l herabgesetzt wird (Abb. 4 und 8; Tab. 2 und 3).

Andererseits jedoch ist die Freisetzung von Noradrenalin durch das indirekt wirkende Sympathomimetikum Tyramin auch in Abwesenheit von Calcium auszulösen (LINDMAR et al., 1967; THOENEN et al., 1969). Sie unterliegt ferner nicht einer muskarinischen Hemmung (LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL, 1969). Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung stehen mit der Hypothese von LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL (1969) und von MALIK und LING (1969) in Einklang, wonach Freisetzungsmechanismen, die an den Eintritt von Calciumionen in die terminale Nervenfasern gebunden sind, durch muskarinische Substanzen gehemmt werden. Es wird aufgrund elektrophysiologischer Befunde (HAEUSLER et al., 1968) und pharmakologischer Ergebnisse mit de- und hyperpolarisierenden muskarinischen Substanzen (FOZARD und MUSCHOLL, 1972) vermutet, daß Methacholin und ähnliche Substanzen eine Hyperpolarisation der Axonmembran bewirken, welche die Depolarisation durch elektrische sympathische Nervenreizung, nicotinartige Substanzen und Kaliumionen verhindert.

Während der Dauer des Calciumentzuges war die Kontraktilität des Myokards aufgehoben und die mechanischen Funktionen des Herzens fielen aus (Abb. 3). Diese Beobachtung stimmt mit

den heutigen Vorstellungen über die Funktion des Calciums bei der elektromechanischen Kopplung überein.

Bei der Infusion von Methacholin wurde die systolische Spannungsentwicklung von Kammer und Vorhof und die Schlagfrequenz stark reduziert (Abb. 7). Dies wird auf die Erregung der seit langem bekannten muskarinischen Rezeptoren an den Myokardfasern zurückgeführt, die sich von denen an den Membranen adrenerger Nervenfasern pharmakologisch nicht unterscheiden (FOZARD und MUSCHOLL, 1972).

Schließlich wurde geprüft, ob Calciumentzug und Gabe von Methacholin das Verhältnis der Amine im Perfusat gegenüber Kontrollen verändert. Weder bei sympathischen Nervenreizungen noch bei PAPETA-Gabe hatte die unterschiedliche Behandlungsweise eine veränderte Zusammensetzung der Katecholamine im Perfusat zur Folge. α -Methyladrenalin war immer in demjenigen Verhältnis zu Noradrenalin freigesetzt worden, in welchem es sich im Extrakt des Herzens nach Ende der Perfusion nachweisen ließ. In demselben Verhältnis zur Summe der Amine war α -Methyladrenalin auch im Extrakt der Herzen nachzuweisen, die 20 min nach Ende der Infusion, also vor einer Perfusion aufbereitet worden waren. Der Amingehalt der Herzen, die erst nach der Perfusion zur Aufbereitung kamen, war nur noch halb so groß wie der, der in nicht perfundierten Herzen gemessen worden war. Es ist also die Hälfte des ursprünglichen Gehaltes an Noradrenalin und α -Methyladrenalin durch Spontanabgaben und Reizungen aus dem Herzen abgegeben oder in der Zwischenzeit metabolisiert worden.

Wie Untersuchungen mit histofluorometrischen Methoden gezeigt haben, werden Noradrenalin und verschiedene "falsche" Überträgersubstanzen in die adrenergen Nervenfasern aufgenommen und dort gespeichert (PATIL und JACOBOWITZ, 1968). Elektromikroskopische Befunde von THOENEN und TRANZER (1971) bewiesen, daß die "falschen" Transmitter ausschließlich im

adrenergen terminalen Axon gespeichert werden und sonst an keiner anderen Stelle. Die Anhäufung von Katecholaminen in der Mikrosomenfraktion von Gewebehomogenisaten (MUSACCHIO, KOPIN und WIESE, 1965) spiegelt also ihre Anwesenheit in den Vesikeln der Nervenfasern wieder.

Noradrenalin und α -Methyladrenalin werden im gleichen Verhältnis zueinander aus den Aminspeichern der terminalen Nervenfasern freigesetzt, in dem sie darin enthalten sind. Daß sich α -Methyladrenalin bei den beschriebenen Untersuchungen qualitativ ebenso verhält wie Noradrenalin in früheren Untersuchungen, ist ein weiterer Hinweis darauf, daß die "falschen" Überträgersubstanzen durch ähnliche, wenn nicht sogar gleiche Mechanismen aus den terminalen Nervenfasern freigesetzt werden.

E. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit sollte der Einfluß des Calciumentzuges und des Methacholin auf die Freisetzung des "falschen" Überträgerstoffes α -Methyladrenalin aus dem isolierten Kaninchenherzen durch elektrische Reizung sympathischer Nerven und durch eine nicotinartige Substanz geprüft werden.

Narkotisierte Kaninchen erhielten während 20 min eine intravenöse Infusion von 85 μ g/kg u. min α -Methyladrenalin und wurden 15 min nach Ende der Infusion entblutet. Das Herz wurde unter Erhaltung des rechten Ganglion stellatum und dessen kardialen sympathischen Nervenfasern isoliert und nach LANGENDORFF mit Tyrodelösung perfundiert. Dabei wurden die systolischen Spannungsentwicklungen von rechter Kammer und rechtem Vorhof und die Frequenz registriert.

Die Freisetzung von Katecholaminen in die Perfusate wurde nach elektrischer Reizung sympathischer Nerven oder nach Infusion der nicotinartigen Substanz PAPETA gemessen und jeweils mit derjenigen verglichen, die bei Perfusion mit einer Lösung erniedrigten Calciumgehaltes oder bei Gabe von Methacholin erhalten wurde.

Verminderung der Calciumionen im Perfusionsmedium setzte die Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin durch sympathische Nervenreizung und PAPETA sehr stark herab und führte zum Stillstand des Herzens. Ebenso hatte der Zusatz von Methacholin zur Folge, daß Noradrenalin und α -Methyladrenalin nur noch in geringem Maße freigesetzt wurden. Dabei sistierten die mechanischen Funktionen des Herzens nahezu völlig. Atropin hob die Wirkung des Methacholin vollständig auf. Die Amine wurden immer in dem Verhältnis freigesetzt, in welchem sie in den Herzen nachgewiesen wurden.

Die vorliegenden Befunde zeigen, daß die Freisetzung eines

"falschen" Transmitters durch elektrische sympathische Nervenreizung oder durch die nicotinartige Substanz PAPETA abhängig vom extracellulären Calciumgehalt ist.

Fernerhin ergibt sich, daß der bislang für die Freisetzung des natürlichen adrenergen Transmitters nachgewiesene muskarinische Hemmechanismus auch bei der Freisetzung eines "falschen" Überträgerstoffes wirksam ist.

LITERATUR

- ALLEN, G. S., GLOVER, A. B., RAND, M. J. and D. F. STORY:
Effects of acetylcholine on vasoconstriction and
release of ^3H -noradrenaline in response to
sympathetic nerve stimulation in the isolated
artery of the rabbit ear.
Brit. J. Pharmacol. 46 (1972), 527 - 528
- BARLOW, R. B. and FRANKS, F.: Specificity of some ganglion
stimulants.
Brit. J. Pharmacol. 42 (1971), 137 - 142
- BOULLIN, D. J.: The action of extracellular cations on the
release of the sympathetic transmitter from
peripheral nerves
J. Physiol., London, 189 (1967), 85 - 99
- DUBEY, R. M. and MUSCHOLL, E.: Muscarinic inhibition of
noradrenaline release evoked by potassium ions.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 277 (1973),
suppl. R 12
- EULER, U. S. von and ORWEN, J.: Preparation of extracts of
urine and organs from estimation of free and
conjugated noradrenaline and adrenaline.
Acta Physiol. Scand. 33, (1955), suppl. 118, 1-9
- FOZARD, J. R. and MUSCHOLL, E.: A useful muscarinic parameter
and the differential recording of atrial and
ventricular tension in the perfused rabbit heart.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 270 (1971),
319 - 325
- FOZARD, J. R. and MUSCHOLL, E.: Effects of several muscarinic
agonists on cardiac performance and the release of
noradrenaline from sympathetic nerves of the
perfused rabbit heart.
Brit. J. Pharmacol. 45 (1972), 616 - 626

- HAEUSLER, G., THOENEN, H., HAEFELY, W. and HÜRLIMANN, A.:
Electrical events in cardiac adrenergic nerves and
noradrenaline release from the heart induced by
acetylcholine and KCl.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 261
(1968), 389 - 411
- HUKOVIC, S. und MUSCHOLL, E.: Die Noradrenalin-Abgabe aus dem
isolierten Kaninchenherzen bei sympathischer Nerven-
reizung und ihre pharmakologische Beeinflussung.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmako. 244
(1962), 81 - 96
- KIRPEKAR, S. M. and MISU, Y.: Release of noradrenaline by
splenic nerve stimulation and its dependence on calcium.
J. Physiol., London 188 (1967), 219 - 234
- KIRPEKAR, S. M. and WAKADE, A. R.: Release of noradrenaline
from the cat spleen by potassium.
J. Physiol., London 194 (1968), 595 - 608
- KIRPEKAR, S. M., PRAT, J. C., PUIG, M. and WAKADE, A. R.:
Modification of the evoked release of noradrenaline
from the perfused cat spleen by various ions and agents.
J. Physiol., London 221 (1972), 601 - 615
- KOPIN, I. J.: False adrenergic transmitters.
Ann. Rev. Pharmacol. 8 (1968), 377 - 394
- LINDMAR, R. und MUSCHOLL, E.: Die Wirkung von Pharmaka auf die
Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssig-
keit und die Noradrenalinaufnahme in das isolierte Herz.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmako. 247
(1964), 469 - 492
- LINDMAR, R., LÖFFELHOLZ, K. und MUSCHOLL, E.: Unterschiede
zwischen Tyramin und Dimethylphenylpiperazin in der
Calcium-Abhängigkeit und im zeitlichen Verlauf der
Noradrenalin-Freisetzung am isolierten Kaninchenherzen.
Experientia 23 (1967), 933 - 934

- LIMDMAR, R., LÖFFELHOLZ, K. und MUSCHOLL, E.: A muscarinic mechanism inhibiting the release of noradrenaline from peripheral adrenergic nerve fibres by nicotinic agents.
Brit. J. Pharmacol. 32 (1968), 280 - 294
- LINDMAR, R., MUSCHOLL, E. und SPRENGER, E.: Funktionelle Bedeutung der Freisetzung von Dihydroxyephedrin und Dihydroxypseudoephedrin als falsche sympathischen Überträgerstoffen am Herzen.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmakol. exp. Path. 256 (1967), 1 - 25
- LÖFFELHOLZ, K.: Untersuchungen über die Noradrenalin-Freisetzung durch Acetylcholin am perfundierten Kaninchenherzen.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmakol. exp. Path. 258 (1967), 108 - 122
- LÖFFELHOLZ, K. and MUSCHOLL, E.: A muscarinic inhibition of noradrenaline release evoked by postganglionic sympathetic nerve stimulation.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmakol. 265 (1969), 1 - 15
- MALIK, K. U. and LING, G. M.: Modification by acetylcholine of response of rat mesenteric arteries to sympathetic stimulation.
Circulat. Res. 25 (1969), 1 - 9
- MUSACCHIO, J. M., KOPIN, I. J. and WEISE, V. K.: Subcellular distribution of some sympathomimetic amines and their β -hydroxylated derivatives in the rat heart.
J. Pharmacol. exp. Ther. 148 (1965), 22 - 28
- MUSCHOLL, E.: Release of catecholamines from the heart. In: Mechanisms of Release of Biogenic Amines, pp. 247 - 260, ed. by U.S. von Euler, S. Rosell and B. Uvnäs. Oxford: Pergamon Press (1966)

- MUSCHOLL, E.: Adrenergic false transmitters.
Handb. exp. Pharmacol. 33 (1972), 618 - 660
- MUSCHOLL, E.: Muscarinic inhibition of the norepinephrine release from peripheral sympathetic fibres.
Proc. 6th Int. Cong. Pharmacology 4 (1973), 440 - 457
- MUSCHOLL, E. und SPRENGER, E.: Vergleichende Untersuchungen der Blutdruckwirkung, Aufnahme und Speicherung von Dihydroxyephedrin (α -Methyladrenalin) und Dihydroxypseudoephedrin.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. exp. Path. 254 (1966), 109 - 124
- PATIL, P. N. and JACOBOWITZ, D.: Steric aspects of adrenergic drugs.
IX Pharmacologic and histochemical studies on isomers of cobefrin (α -methylnorepinephrine).
J. Pharmacol. exp. Ther. 161 (1968) 279 - 295
- SACHS, L.: Statistische Auswertungsmethoden, 3. Aufl. (1971)
Springer Verlag, Berlin- Heidelberg - New York
U-Test von Wilcoxon S. 230 - 238
- SNEDECOR, G. W.: Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology.
Iowa State College Press 4th Edt. (1950)
- STEINSLAND, O. S., FURCHGOTT, R. F. and KIRPEKAR, S. M.:
Inhibition of adrenergic neurotransmission by parasymphomimetics in the rabbit ear artery.
J. Pharmacol. exp. Ther. 184 (1973), 346 - 356
- THOENEN, H., HUERLIMANN, A. and HAEFELY, W.: Cation dependence of noradrenaline-releasing action of tyramine.
Europ. J. Pharmacol. 6 (1969), 29 - 37
- THOENEN, H. and TRANZER, J. P.: Functional importance of sub-cellular distribution of false adrenergic transmitters.
Progr. Brain Res. in press (1971)

Herrn Professor Dr. E. Muscholl danke ich herzlich
für die Überlassung des Themas dieser Arbeit.

Mein Dank gilt auch Fräulein Barbara Hering für die
sachkundige Mitarbeit.

Lebenslauf

Am 10. Juni 1950 wurde ich, Hermann Fuder, als Sohn des Spenglers Georg Fuder und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Klein, in Ludwigshafen/Rhein geboren.

Von 1957 bis 1961 war ich Schüler der Johann Hofmann - Schule in Mutterstadt. Anschließend besuchte ich bis zum Abitur 1969 den humanistischen Zweig des Staatlichen Theodor Heuss - Gymnasiums in Ludwigshafen/Rhein.

Im Oktober 1969 begann ich an der Johannes Gutenberg - Universität in Mainz das Medizinstudium und absolvierte im Sommer 1970 das Vorphysikum und im Winter 1972 das Physikum. Ich nahm im Herbst 1972 die Arbeiten an meiner Dissertation am Pharmakologischen Institut der Universität Mainz auf. Im Sommer 1975 bestand ich in Mainz die ärztliche Prüfung und bin nun als Medizinalassistent am Pharmakologischen Institut der Universität Mainz angestellt.

